Test APTIMA COMBO 2

Pour diagnostic *in vitro*.

Réservé à l'exportation américaine uniquement.

Informations générales 2

Usage prévu 2
Résumé et explication du test 2
Principes de la procédure 3
Avertissements et précautions 4
Conditions de conservation et de manipulation des réactifs 8
Collecte et conservation des échantillons 9

Interprétation du test – QC/Résultats patients 39
Limites 42
Valeurs attendues pour les DTS Systems 45
Performance clinique du test avec les DTS Systems 47
Performance analytique des DTS Systems 71
Concordance des échantillons cliniques pour le TIGRIS DTS System . . . 75
Performance analytique du TIGRIS DTS System 82
Performance analytique du PANTHER System 86
Bibliographie 89

DTS Systems 11
Réactifs et matériels fournis 11
Matériel requis mais disponible séparément 13
Matériel optionnel 14
Procédure de test avec les DTS Systems 14
Remarques concernant la procédure 20

PANTHER System 31
Réactifs et matériels fournis 31
Matériel requis mais disponible séparément 33
Matériel optionnel 34
Procédure de test pour le PANTHER System 34
Remarques concernant la procédure 37

TIGRIS DTS System 24
Réactifs et matériels fournis 24
Matériel requis mais disponible séparément 25
Matériel optionnel 26
Procédure de test pour le TIGRIS DTS System 26
Remarques concernant la procédure 30

Informations générales

Usage prévu

Le test APTIMA COMBO 2 est un test par sonde d'acide nucléique pour l'amplification de cible qui utilise la capture de cible pour la détection qualitative et la différenciation *in vitro* du RNA ribosomique (rRNA) de *Chlamydia trachomatis* (CT) et/ou de *Neisseria gonorrhoeae* (GC) afin de faciliter le diagnostic des infections à Chlamydia et/ou gonococciques de l'appareil génito-urinaire au moyen du TIGRIS DTS System ou du PANTHER System, ou en utilisant l'instrumentation semi-automatique des DTS Systems, comme indiqué. Ce test peut être employé pour analyser les échantillons suivants provenant d'individus symptomatiques : échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon ; échantillons d'urine féminins et masculins. Ce test peut également être employé pour analyser les échantillons suivants provenant d'individus asymptomatiques : échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon ; échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal[1] ; échantillons d'urine féminins et masculins. Ce test est aussi prévu pour être utilisé avec les tests d'échantillons gynécologiques de patientes à la fois symptomatiques et asymptomatiques. Ces échantillons cervicaux collectés dans les flacons de solution PreservCyt peuvent être testés avant ou après le traitement du frottis. L'analyse des échantillons après traitement du frottis est limitée aux seuls échantillons traités avec le système ThinPrep 2000.

[1]Les échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal offrent une option de dépistage chez les femmes lorsqu'un examen pelvien n'est pas autrement indiqué. Le kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal n'est pas prévu pour une utilisation à domicile.

Résumé et explication du test

Les infections à *Chlamydia trachomatis* (CT) et *Neisseria gonorrhoeae* (GC) sont deux infections sexuellement transmissibles parmi les plus fréquentes au monde. En 2010, les Centres de contrôle des maladies (Centers for Disease Control) des États-Unis ont recensé, sur le territoire américain, un nombre de nouveaux cas d'infections estimé à 1 307 893 (426,0 cas pour 100 000 personnes) pour la CT et à 309 341 (100,8 cas pour 100 000 personnes) pour la GC (5).

Les Chlamydiae sont des bactéries intracellulaires strictes, non motiles et Gram-négatif. L'espèce CT se compose de quinze sérotypes (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 et L3) susceptibles de provoquer des maladies chez l'homme (34). Les sérotypes D à K constituent la principale cause d'infections génitales à Chlamydiae chez l'homme et la femme (26). *C. trachomatis* peut provoquer des urétrites, épididymites, rectites, cervicites, salpingites aiguës et des infections génitales hautes (PID) non gonococciques (3, 15, 28, 29). Les infections à *C. trachomatis* sont souvent asymptomatiques aussi bien chez l'homme que la femme. Les enfants nés de mères infectées présentent un risque sensiblement plus élevé de conjonctivites à inclusions et de pneumonies chlamydiales (1, 11, 28).

Traditionnellement, plusieurs méthodes de détection de CT ont été utilisées en laboratoire clinique, notamment la culture de cellules, la réaction d'immunofluorescence (technique des anticorps fluorescents), et le test d'immunoenzymologie. Parmi les méthodologies plus récentes de détection de CT figurent les tests de sonde DNA directs ainsi que les tests DNA d'amplification de l'acide nucléique (NAAT). Auparavant, la culture de cellules était considérée comme la « norme de référence » pour la détection de CT. Bien que la culture soit particulièrement précise, les publications scientifiques ont démontré que les technologies NAAT de sonde DNA offrent une sensibilité clinique supérieure aux cultures (2, 9, 17, 30).

En raison de sa sensibilité clinique plus faible et d'une performance variable entre laboratoires, la culture a été remplacée dans de nombreux laboratoires par les tests de sonde DNA directs et les NAAT.

N. gonorrhoeae est l'agent responsable des maladies gonococciques. *Les N. gonorrhoeae* sont des diplocoques Gram-négatifs non motiles. La majorité des infections gonococciques prennent la forme d'infections du tractus génital inférieur dénuées de complications et peuvent être asymptomatiques. Toutefois, si elles ne sont pas traitées chez la femme, ces infections peuvent remonter vers l'utérus et provoquer des infections génitales hautes (PID). Ces infections génitales hautes (PID) se manifestent sous forme d'endométrites, de salpingites, de péritonites pelviennes et d'abcès ovario-tubaires. Un faible pourcentage des personnes souffrant d'infections gonococciques peut développer des infections gonococciques disséminées (DGI) (14, 20).

Le diagnostic conventionnel de l'infection à GC nécessite l'isolation de l'organisme dans un mileu sélectif ou l'observation des diplocoques sur des frottis à coloration de Gram (16). Les méthodes de culture peuvent offrir une bonne sensibilité clinique, mais elles dépendent fortement de la qualité de la manipulation des échantillons. De mauvaises conditions de conservation ou de transport des échantillons peuvent affecter la viabilité des organismes et donner des résultats faussement négatifs. En outre, des techniques d'échantillonnages médiocres, du matériel d'échantillonnage toxique et l'inhibition de la croissance par des composants de sécrétion corporelle peuvent également entraîner des résultats faussement négatifs (7, 18). Mis à part les cultures, les méthodes couramment utilisées pour la détection de GC comprennent les tests de sonde DNA directs ainsi que les tests NAAT.

La première génération de NAAT pour CT et GC présentait des problèmes techniques qui en ont limité la performance. Ces problèmes étaient notamment liés à des difficultés de traitement des échantillons et à leur inhibition pouvant introduire des résultats faussement négatifs (6, 10, 13, 19, 25, 31, 32, 33). Le test APTIMA COMBO 2 est un NAAT de deuxième génération qui utilise les techniques de capture de cible, d'amplification par transcription (Transcription-Mediated Amplification, TMA), ainsi que le double test cinétique (Dual Kinetic Assay, DKA) pour simplifier le traitement des échantillons, amplifier le rRNA cible et détecter l'amplicon, respectivement. Des études comparant la performance et l'inhibition des échantillons avec divers systèmes d'amplification ont démontré les avantages des technologies de capture de cible, de la TMA et du DKA (8, 12). Le test APTIMA COMBO 2 détecte le CT et/ou GC rRNA dans les échantillons endocervicaux, vaginaux, et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon, les échantillons vaginaux collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, et les échantillons d'urine masculins et féminins provenant d'individus symptomatiques et asymptomatiques.

Principes de la procédure

Le test APTIMA COMBO 2 allie les technologies de capture de cible, de la TMA et du DKA.

Les échantillons sont collectés et transférés dans leurs tubes de transport d'échantillon respectifs. Les solutions de transport de ces tubes libèrent les cibles rRNA et les empêchent de se détériorer pendant la période de conservation. Lorsque le test APTIMA COMBO 2 est réalisé en laboratoire, les molécules de rRNA cibles sont isolées à partir des échantillons par la méthode de capture de cible à l'aide d'oligomères de capture et de microparticules magnétiques. Les oligomères de capture contiennent les séquences complémentaires à des régions précises des molécules cibles de même qu'une chaîne de résidus de déoxyadénosine. Un oligomère de capture distinct est utilisé pour chaque cible. Lors de l'étape d'hybridation, les régions spécifiques de la séquence des oligomères de capture se

fixent sur des régions précises des molécules cibles. Le complexe oligomère/capture de cible est ensuite capturé hors de la solution en ramenant la température de la réaction à température ambiante. Cette réduction de température permet à l'hybridation de se produire entre la région désoxyadénosine de l'oligomre de capture et les molécules poly-désoxythimidines liées covalentement aux particules magnétiques. Les microparticules, y compris les molécules cible capturées auxquelles elles sont liées, sont attirées sur la paroi de la cuve à réaction par des aimants, et le surnageant est aspiré. Les particules sont lavées afin d'éliminer la matrice résiduelle de l'échantillon qui peut contenir des inhibiteurs de la réaction d'amplification. Une fois les étapes de capture de cible terminées, les échantillons sont prêts à l'amplification.

Les tests d'amplification de cible reposent sur la capacité des amorces d'oligonucléotides complémentaires de tremper spécifiquement et de permettre l'amplification enzymatique des brins de l'acide nucléique cible. Le test APTIMA COMBO 2 réplique une région spécifique du rRNA 23S de CT et une région spécifique du rRNA 16S de GC via des formes intermédiaires de DNA. On utilise un seul jeu d'amorces pour chaque molécule cible. La détection des séquences du produit de l'amplification du rRNA (amplicon) s'effectue par l'hybridation de l'acide nucléique. Des sondes DNA chimiluminescentes monocaténaires, qui sont complémentaires à une région de l'amplicon cible, sont marquées avec différentes molécules d'ester d'acridinium. Les sondes DNA marquées se combinent à l'amplicon pour former des hybrides RNA:DNA stables. Le réactif de sélection différencie la sonde hybridée de celle qui ne l'est pas, éliminant ainsi la génération de signal par la sonde non hybridée. Lors de l'étape de détection, la lumière émise par les hybrides RNA:DNA marqués est mesurée en signaux de photons dans le luminomètre et exprimée en unités relatives de lumière (RLU). Dans la méthode DKA, le signal est différencié selon les différences qui existent au niveau des profils cinétiques des sondes marquées CT et GC ; ces profils cinétiques proviennent de mesures de l'émission de photons pendant la durée de lecture. La réaction de détection chimiluminescente du signal de CT a une cinétique très rapide et un profil cinétique de type « signal éclair ». La réaction de détection chimiluminescente du signal de GC est relativement plus lente et son profil cinétique est de type « signal brillant ». Les résultats du test sont déterminés par des valeurs limites basées sur les unités RLU totales et le type de courbe cinétique.

Avertissements et précautions

A. Pour diagnostic *in vitro*.

B. Pour tout avertissement, précaution ou procédure complémentaire concernant le contrôle de la contamination avec le TIGRIS DTS System, consultez le *Manuel de l'opérateur du système TIGRIS DTS (TIGRIS DTS System Operator's Manual).*

C. Pour tout avertissement, précaution ou procédure complémentaire concernant le contrôle de la contamination pour le PANTHER System, consultez le *Manuel de l'opérateur du système PANTHER (PANTHER System Operator's Manual).*

Recommandations concernant les laboratoires

D. Le test n'a pas été évalué dans des populations de patients présentant une prévalence faible pour les infections à Chlamydiae, ainsi, la performance du test dans un environnement où la prévalence est faible n'a pas été établie.

E. N'utilisez que le matériel de laboratoire jetable fourni ou recommandé.

F. Prenez les précautions de laboratoire habituelles. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail signalées. Portez des gants jetables sans poudre, des lunettes de protection et des blouses de laboratoire pour manipuler les échantillons et les réactifs du kit. Lavez-vous bien les mains après avoir manipulé les échantillons et réactifs du kit.

G. **Avertissement : produits irritants et corrosifs** : Évitez tout contact d'Auto Detect 1 et d'Auto Detect 2 avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas de contact de ces liquides avec la peau ou les yeux, lavez la zone affectée à l'eau. En cas de déversement de ces liquides, diluez le produit répandu à l'eau avant de l'essuyer.

H. Les plans de travail, pipettes et tout autre matériel doivent être régulièrement décontaminés avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M).

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

I. Il est fortement recommandé de réserver un espace de travail spécifique au test DKA pour minimiser la contamination par l'amplicon lors du test. Cet espace de travail devrait être éloigné du lieu de préparation du réactif, de capture de cible et d'amplification.

J. Pour éviter la contamination des différentes zones du laboratoire par l'amplicon, le sens de travail du laboratoire devrait être unidirectionnel : de la préparation des réactifs vers le DKA. Les échantillons, le matériel et les réactifs ne doivent pas être ramenés là où une étape précédente a été effectuée. De la même manière, le personnel ne devra pas retourner dans les zones de travail des étapes précédentes sans s'entourer de précautions adéquates pour éviter toute contamination.

Recommandations concernant les échantillons

K. Cette méthode a été testée en utilisant uniquement des échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon, des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, des échantillons vaginaux sur écouvillon et des échantillons d'urine masculins et féminins. La performance de cette méthode n'a pas été évaluée pour tout échantillon autre que ceux décrits au paragraphe *Collecte et conservation des échantillons*.

Les laboratoires peuvent valider d'autres dispositifs de collecte d'échantillons (21, 23).

L'utilisation de kits de collecte PACE a été validée pour les DTS Systems mais uniquement lorsqu'ils sont associés au kit d'adaptateurs APTIMA. L'utilisation du kit de collecte PACE et du kit d'adaptateurs APTIMA n'est pas actuellement validée pour le TIGRIS DTS System ou le PANTHER System.

Les échantillons gynécologiques collectés pour être préparés avec le ThinPrep 2000 System devraient être collectés uniquement au moyen de dispositifs de type balai ou brosse/spatule en plastique endocervicaux.

L. Les dates de péremption figurant sur les kits de collecte concernent le site de collecte, et non l'établissement effectuant les tests. Les échantillons collectés avant la date de péremption du kit de collecte, puis transportés et conservés conformément à la notice du test, sont valides pour être testés même si la date de péremption du tube de collecte est dépassée.

M. La solution PreservCyt a été validée en tant que milieu alternatif pour l'analyse par le test APTIMA COMBO 2. Les échantillons de frottis en solution PreservCyt traités avec le processeur ThinPrep 3000 ou d'autres instruments n'ont pas été évalués pour la

détection de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* au moyen du test APTIMA COMBO 2.

N. Une fois l'urine versée dans le tube de transport d'urine, le niveau de liquide de ce tube doit se situer entre les deux lignes indicatrices noires sur l'étiquette du tube. Dans le cas contraire, l'échantillon doit être rejeté.

O. Observez des conditions de conservation adéquates pendant le transport des échantillons pour préserver leur intégrité. La stabilité des échantillons dans des conditions de transport autres que celles recommandées n'a pas été évaluée.

P. Les échantillons peuvent être infectieux. Utilisez les Précautions universelles en effectuant ce test. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates. Seul le personnel ayant reçu une formation adéquate pour manipuler des substances infectieuses devrait être autorisé à effectuer cette procédure de diagnostic.

Q. Évitez toute contamination croisée lors des étapes de manipulation des échantillons. Les échantillons peuvent contenir des taux d'organismes très importants. Veillez à éviter tout contact entre les différents récipients d'échantillons et à ne pas passer au-dessus d'un récipient ouvert en jetant le matériel usagé. Changez de gants en cas de contact avec l'échantillon.

R. Si le laboratoire reçoit un tube de transport d'échantillons sur écouvillon sans écouvillon, avec deux écouvillons, un écouvillon de nettoyage, ou un écouvillon non fourni par Gen-Probe, l'échantillon doit être rejeté. Avant de rejeter un tube de transport d'échantillons sans écouvillon, vérifiez qu'il ne s'agit pas d'un tube de transfert d'échantillons APTIMA étant donné que ce type de tube ne comporte pas d'écouvillon.

S. Concernant les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, effectuez leur collecte conformément aux instructions du fabricant. Les aliquots qui ont été retirés ultérieurement du flacon PreservCyt pour être analysés au moyen du test APTIMA COMBO 2 doivent être traités en utilisant uniquement le kit de transfert d'échantillons APTIMA.

T. Si le bouchon d'un tube de transport APTIMA venait à être perforé, le liquide pourrait s'écouler sous certaines conditions. Suivez les instructions de la *Procédure de test* appropriée afin d'éviter cette situation.

Recommandations concernant les tests

U. La performance des échantillons collectés à l'aide d'un écouvillon vaginal n'a pas été évaluée chez les femmes enceintes.

V. La performance des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins, et des échantillons de frottis en solution PreservCyt n'a pas évaluée chez des adolescents de moins de 16 ans.

W. Ne pas utiliser ce kit après la date de péremption.

X. **Ne pas échanger, mélanger ou combiner les réactifs** de kits portant différents numéros de lots. Il est possible d'utiliser les contrôles et les solutions provenant de kits APTIMA portant différents numéros de lots.

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

Y. Des pointes de pipette munies de filtres hydrophobes doivent être utilisées. Au moins deux pipeteurs à répétition doivent être dédiés à une utilisation pour ce test : un premier pour les étapes de capture de cible et d'amplification, et un deuxième pour les étapes du DKA. Deux micro-pipeteurs doivent être dédiés à une utilisation pour ce test : un premier pour le transfert des échantillons et un deuxième pour la préparation des réactifs. Tous les pipeteurs doivent être régulièrement nettoyés conformément aux instructions indiquées sous *Procédure de test avec les DTS Systems*, *Remarques concernant la procédure*.

Z. Si vous utilisez des pipeteurs à répétition pour ajouter des réactifs, ne touchez pas le tube avec l'embout de la pipette afin d'éviter toute contamination d'un tube à l'autre.

AA. Un mélange adéquat est nécessaire pour obtenir des résultats de test précis. Pour de plus amples détails, consultez la *Procédure de test avec les DTS Systems*, *Remarques concernant la procédure*.

AB. Réservez des bains-marie distincts aux étapes de capture de cible, d'amplification et du DKA lors du test.

AC. Les cartes de protection doivent être jetées dans le récipient à déchets immédiatement après avoir été retirées des tubes réactionnels. Des cartes de protections neuves doivent toujours être utilisées : elles ne doivent jamais être réutilisées d'une étape à l'autre. Les cartes de protection doivent être fermement apposées sur le dessus de tous les tubes réactionnels.

Conditions de conservation et de manipulation des réactifs

A. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C (réfrigérés) :

   Réactif d'amplification APTIMA COMBO 2

   Réactif enzymatique APTIMA COMBO 2

   Réactif-sonde APTIMA COMBO 2

   Réactif de capture de cible B APTIMA COMBO 2

   Contrôle positif CT / contrôle négatif GC APTIMA

   Contrôle positif GC / contrôle négatif CT APTIMA

B. Les réactifs suivants restent stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C :

   Solution de reconstitution de l'amplification APTIMA COMBO 2

   Solution de reconstitution enzymatique APTIMA COMBO 2

   Solution de reconstitution de sonde APTIMA COMBO 2

   Réactif de sélection APTIMA COMBO 2

C. Les réactifs suivants sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 15 °C et 30 °C (température ambiante) :

   Réactif de capture de cible

   Solution de lavage APTIMA

   Tampon APTIMA pour solution de désactivation

   Réactif huileux APTIMA

D. La préparation de réactif de capture de cible (working Target Capture Reagent, wTCR) est stable pendant 30 jours lorsqu'elle est conservée entre 15 °C et 30 °C. Ne pas réfrigérer.

E. Une fois reconstitués, le réactif enzymatique, le réactif d'amplification et le réactif-sonde restent stables pendant 30 jours s'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C.

F. Jetez tout réactif reconstitué et wTCR non utilisé au bout de 30 jours ou après la date de péremption du lot de référence si celle-ci survient avant.

G. Les contrôles restent stables jusqu'à la date indiquée sur les flacons.

H. Si des réactifs sont conservés en restant intégrés dans le TIGRIS DTS System, leur stabilité intégrée ne dépassera pas 48 heures.

I. Si des réactifs sont conservés en restant intégrés dans le PANTHER System, leur stabilité intégrée ne dépassera pas 72 heures.

J. Le réactif-sonde et le réactif-sonde reconstitué sont photosensibles. Conservez les réactifs à l'abri de la lumière. La stabilité reconstituée indiquée est basée sur une exposition de 12 heures du réactif-sonde reconstitué à deux ampoules fluorescentes de 60 W situées à 43 cm de distance et à une température inférieure à 30 °C. L'exposition à la lumière du réactif-sonde reconstitué doit être limitée en conséquence.

K. Lorsqu'ils parviennent à température ambiante, certains tubes de contrôle peuvent être troubles ou contenir des précipités. La turbidité ou la précipitation associée à ces contrôles n'en affecte pas la performance. Les contrôles peuvent être utilisés en étant

limpides ou troubles/précipités. Si l'on souhaite travailler avec des contrôles limpides, il est possible d'accélérer la solubilisation en les incubant aux valeurs maximales de la plage de température ambiante (15 °C à 30 °C).

L. Ne pas congeler les réactifs.

Collecte et conservation des échantillons

Le test APTIMA COMBO 2 est conçu pour détecter la présence de CT et de GC dans les échantillons endocervicaux et urétraux mâles collectés à l'aide d'un écouvillon, les échantillons vaginaux collectés à l'aide d'un écouvillon, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, et les échantillons d'urine masculins et féminins. La performance avec des échantillons autres que ceux collectés avec les kits de collecte d'échantillons suivants n'a pas été évaluée :

- Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon
- Kit de collecte d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins
- Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal APTIMA
- Kit de transfert d'échantillons APTIMA (à utiliser avec les échantillons gynécologiques collectés dans la solution PreservCyt)

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

- Kit de prélèvement d'échantillons PACE pour échantillons urétraux mâles ou conjonctivaux (en conjonction avec le kit d'adaptateur APTIMA)
- Kit de collecte d'échantillons PACE pour échantillons endocervicaux (en conjonction avec le kit d'adaptateurs APTIMA)

A. Instructions de collecte :

Référez-vous à la notice du test correspondant au kit de collecte d'échantillons utilisé pour toute instruction.

B. Transport et conservation des échantillons avant le test :

1. Échantillons sur écouvillon :
   a. Une fois l'écouvillon collecté, transportez-le et conservez-le dans le tube de transport d'échantillons sur écouvillon entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons doivent être analysés avec le test APTIMA COMBO 2 dans les 60 jours qui suivent leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congelez entre -20 °C et -70 °C pendant 12 mois maximum après la collecte (voir *Études de la stabilité des échantillons*).
2. Échantillons d'urine :
   a. Les échantillons d'urine qui sont encore dans le récipient de collecte principal doivent être transportés au laboratoire à une température de 2 °C à 30 °C. Transférez l'échantillon d'urine dans le tube de transport pour échantillons d'urine APTIMA dans les 24 heures qui suivent sa collecte. Conservez entre 2°C et 30 °C et testez dans les 30 jours qui suivent la collecte.
   b. Une fois collectés, transportez les échantillons d'urine traités dans le tube de transport pour échantillons d'urine APTIMA entre 2 °C et 30 °C et conservez le tube entre 2 °C et 30 °C jusqu'à la réalisation du test. Les échantillons d'urine traités doivent être analysés avec le test APTIMA COMBO 2 dans les 30 jours qui suivent

leur collecte. Si une durée de conservation supérieure est nécessaire, congelez entre -20 °C et -70 °C pendant 12 mois maximum après la collecte (voir *Études de la stabilité des échantillons*).

3. Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt :
   a. Les échantillons de frottis en solution PreservCyt destinés aux tests CT et/ou GC doivent être traités, en ce qui concerne la cytologie, et/ou transférés dans un tube de transfert d'échantillon APTIMA dans les 30 jours qui suivent leur collecte lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 30 °C (reportez-vous à la section *Études de la stabilité des échantillons*).
   b. Si la procédure de retrait d'aliquot ThinPrep est utilisée, reportez-vous à l'annexe du *Manuel de l'opérateur du processeur ThinPrep 2000 ou ThinPrep 3000* pour des instructions relatives au retrait d'aliquots. Transférez 1 ml de l'aliquot retiré dans un tube de transfert d'échantillon APTIMA conformément aux instructions de la notice du kit de transfert d'échantillons APTIMA.
   c. Si l'échantillon est testé après analyse sur le processeur ThinPrep 2000, traitez l'échantillon de frottis en solution PreservCyt conformément au *Manuel de l'opérateur du processeur ThinPrep 2000* et à la notice du kit de transfert d'échantillons APTIMA. Transférez 1 ml du liquide restant dans le flacon de solution PreservCyt dans un tube de transfert d'échantillon APTIMA conformément aux instructions de la notice de test du kit de transfert d'échantillons APTIMA.
   d. Une fois l'échantillon de frottis en solution PreservCyt transféré dans le tube de transfert d'échantillon APTIMA, il doit être testé avec le test APTIMA COMBO 2 dans les 30 jours s'il est conservé entre 2 °C et 8 °C ou 14 jours s'il est conservé entre 15 °C et 30 °C. Si une durée de conservation plus longue est nécessaire, congelez-le entre -20 °C et -70 °C jusqu'à 12 mois maximum après son transfert (reportez-vous à la section *Études de la stabilité des échantillons*).

C. Conservation des échantillons après les tests :
   1. Les échantillons qui ont été testés doivent être rangés dans un portoir en position verticale.
   2. Les tubes de transport d'échantillons doivent être recouverts avec une nouvelle barrière de film plastique ou d'aluminium propre.
   3. Si certains des échantillons testés doivent être congelés ou envoyés, retirez les bouchons pénétrables et placez de nouveaux bouchons non pénétrables sur les tubes de transport d'échantillons. Si les échantillons doivent être envoyés dans un autre établissement pour y être testés, les températures recommandées doivent être maintenues. Avant de déboucher et de reboucher des échantillons qui ont déjà été testés, les tubes de transport d'échantillons doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (Force centrifuge relative) pour faire descendre la totalité du liquide au fond du tube. **Évitez les projections et les contaminations croisées**.

Remarque : *Le transport des échantillons doit s'effectuer conformément aux réglementations nationales et internationales applicables relatives au transport.*

DTS Systems

Les réactifs du test APTIMA COMBO 2 destiné à détecter la présence de CT et de GC sont énumérés ci-dessous pour les DTS Systems. Les symboles d'identification des réactifs figurent également à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Kit de tests APTIMA COMBO 2, 100 tests (2 boîtes) (référence 301032)

Boîte réfrigérée APTIMA COMBO 2 (Boîte 1 sur 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception).

Symbole	Composant	Quantité
A	**Réactif d'amplification APTIMA COMBO 2** *Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.*	1 flacon
E	**Réactif enzymatique APTIMA COMBO 2** *Transcriptase inverse et polymérase RNA déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de diluant.*	1 flacon
P	**Réactif-sonde APTIMA COMBO 2** *Sondes DNA chimiluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon
TCR-B	**Réactif de capture de cible B APTIMA COMBO 2** *Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	1 x 0,35 mL
PCT/NGC	**Contrôle positif CT / contrôle négatif GC APTIMA** *Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient le rRNA estimé équivalent à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).*	3 x 1,7 mL
PGC/NCT	**Contrôle positif GC / contrôle négatif CT APTIMA** *Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient le rRNA estimé équivalent à 50 cellules de GC (250 fg/test*).*	3 x 1,7 mL

*Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

La boîte réfrigérée comprend également les articles suivants (plateau de stockage) :
(à conserver entre 2 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	**Solution de reconstitution de l'amplification APTIMA COMBO 2** *Solution aqueuse contenant des conservateurs.*	1 x 9,3 mL
ER	**Solution de reconstitution enzymatique APTIMA COMBO 2** *Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.*	1 x 3,3 mL
PR	**Solution de reconstitution de sonde APTIMA COMBO 2** *Solution tamponnée de succinate contenant < 5% de détergent.*	1 x 12,4 mL
S	**Réactif de sélection APTIMA COMBO 2** *600 mM de solution tamponnée de borate contenant un surfactant.*	1 x 31 mL
	Collets de reconstitution	3
	Cartes de protection	1 paquet

Boîte non réfrigérée APTIMA COMBO 2 (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
TCR	**Réactif de capture de cible APTIMA COMBO 2** *Solution saline tamponnée contenant une phase solide et des oligomères de capture.*	1 x 22 mL
W	**Solution de lavage APTIMA** *10 mM de solution tamponnée HEPES contenant < 2 % de détergent.*	1 x 402 mL
DF	**Tampon APTIMA pour solution de désactivation** *800 mM de solution tamponnée de bicarbonate.*	1 x 402 mL
O	**Réactif huileux APTIMA** *Huile de silicone.*	1 x 24,6 mL

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : *Le matériel disponible auprès de Gen-Probe est indiqué par des références catalogue, sauf indication contraire.*

	Référence
LEADER HC+ luminomètre	104747-01
Système de capture de cible GEN-PROBE (Target Capture System, TCS)	104555
Incubateurs et vortexeurs :	
2 vortexeurs multi-tubes	*102160*
3 bain-maries circulateurs (62 °C ± 1 °C, 42 °C ± 1 °C, 62 °C ± 1 °C)	*104586*
3 séparateurs pour bain-marie	*104627*
OU	
2 bains à chaleur sèche/vortexeurs SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer)	*105524*
Des bains SB100 supplémentaires peuvent être nécessaires si le volume de tests augmente	
APTIMA Auto Detect Kit	301048
2 pipeteurs à eppendorf Repeater Plus	105725
2 pipeteurs, 1000 µL RAININ PR1000	901715
Pipeteur eppendorf, 20 µL à 200 µL	105726
Embouts pour pipeteur à répétition, 2,5 mL	21-381-329
Embouts pour pipeteur à répétition, 5,0 mL	21-381-330
Embouts pour pipeteur à répétition, 25,0 mL	21-381-115
Embouts, style P1000 *embout de diamètre spécial disponible uniquement chez Gen-Probe*	105049
Embouts de pipette de 20 µL à 200 µL	705512 (Fisher)
Unités de dix tubes (Ten Tube Units, TTU)	TU0022
Cassettes de dix embouts (Ten Tip Cassettes, TTC)	104578
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal APTIMA	301162
Kit de transfert d'échantillons APTIMA	301154C
Solution étalon SysCheck	301078
Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Récipients standard pour la collecte d'urine, sans conservateurs	—

	Référence
Récipient plastique à large couvercle	—
Bouchons pénétrables APTIMA	105668
Bouchons de rechange non pénétrables	103036A

Matériel optionnel

	Référence
Kit de collecte d'échantillons PACE pour échantillons urétraux mâles et conjonctivaux	103275
Kit de collecte d'échantillons PACE pour échantillons endocervicaux	103300
Kit d'adaptateurs APTIMA	301087
Activateur de javel GEN-PROBE *pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils*	302101
Kit de contrôles APTIMA	301110
Solutions APTIMA *(solution de lavage APTIMA, tampon APTIMA pour solution de désactivation et réactif huileux APTIMA)*	302002C
Panel d'essai STD	102325
Embouts, 1000 µl, conductibles, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
TECAN Freedom EVO 100/4 comprenant	900932
Platine APTIMA COMBO 2 pour DTS 800 Systems Platine	*105200*
Réservoir à réactif (quart de module de 40 mL)	*104765*
Réservoir à réactif divisé en deux (quart de module de 19 mL x 2)	*104763*

Procédure de test avec les DTS Systems

A. Préparation du matériel

1. Préparez un premier bain-marie à 62 °C ± 1 °C (pour la capture de cible et l'hybridation des amorces), un second bain-marie à 42 °C ± 1 °C (pour l'amplification), et un troisième à 62 °C ± 1 °C (pour le test DKA). Si vous utilisez le bain à chaleur sèche/ vortexeur SB100, référez-vous à la *fiche d'application du bain à chaleur sèche/ vortexeur SB100 (Fiche d'application SB100)*.
2. Avant d'entreprendre le test, essuyez les plans de travail et les pipeteurs avec une solution dhypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces et des pipeteurs pendant au moins 1 minute, puis rincer à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle le test sera effectué avec des protections de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.
3. Placez un nombre suffisant de cassettes à dix embouts dans le système de capture de cible (Target Capture System, TCS). Vérifiez que la bouteille de solution de lavage du TCS est remplie avec la solution de lavage APTIMA et que la rampe d'aspiration est branchée sur la pompe à vide. (Se référer au *Manuel de l'opérateur du système de capture de cible [Target Capture System Operator's Manual]*.)

B. Reconstitution des réactifs

Remarque : *La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant de commencer le transfert des échantillons.*

1. Afin de reconstituer le réactif d'amplification, le réactif enzymatique et le réactif-sonde, mélangez la solution de reconstitution aux flacons de réactif lyophilisé. Si les solutions de reconstitution sont réfrigérées, laissez leur température s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser.
   a. Mettez la solution de reconstitution appropriée avec le réactif lyophilisé. Les étiquettes ont différents codes couleur afin de pouvoir être correctement associées.
   b. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité du collet de reconstitution présentant une encoche dans l'ouverture du flacon (Figure 1, Étape 1).
   c. Ouvrez la bouteille de solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
   d. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 1, Étape 2).
   e. Retournez délicatement l'assemblage bouteille/flacon. Laissez la solution s'écouler depuis la bouteille vers le flacon (Figure 1, Étape 3).
   f. Faites tourner délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Évitez de faire de la mousse dans le flacon pendant cette manipulation (Figure 1, Étape 4).
   g. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retournez à nouveau l'assemblage bouteille/flacon en l'inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 1, Étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans la bouteille.
   h. Retirez le collet de reconstitution de la bouteille (Figure 1, Étape 6).
   i. Rebouchez la bouteille. Inscrivez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 1, Étape 7).
   j. Jetez le collet de reconstitution et le flacon (Figure 1, Étape 8).

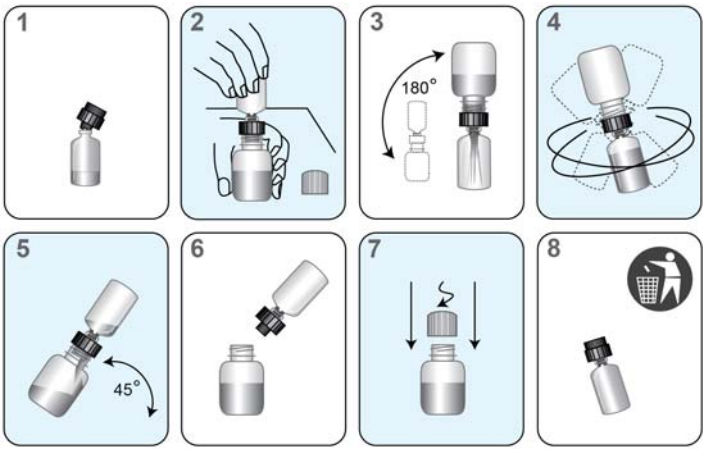

Figure 1. Procédure de reconstitution pour les DTS Systems

2. Les réactifs-sonde, d'amplification et enzymatiques précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test. Si le réactif-sonde contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffez-le à 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde peut être utilisé même s'il reste des précipités résiduels. Mélangez par retournement en veillant à ne pas former de mousse.

Remarque : *Ces retournements devraient être effectués chaque fois qu'un précipité se forme dans la solution, que ce soit par chauffage à 62 °C ou par réchauffement à température ambiante.*

3. Préparation de la solution de réactif de capture de cible (Working Target Capture Reagent, wTCR)
   a. Transférez 20 mL de TCR dans un récipient propre et sec de la taille appropriée et réservé à cet effet.
   b. A l'aide d'un micro-pipeteur, ajoutez 200 µL de TCR-B au TCR.
   c. Tournez délicatement la solution pour bien la mélanger.
   d. Mettez une étiquette sur ce récipient. Notez les initiales de l'opérateur, la date de préparation et les deux numéros de lot.

   Remarque : *Pour un petit nombre de réactions (échantillons et contrôles), utilisez la formule suivante pour calculer les volumes de TCR et TCR-B :*

   Volume du TCR (mL) = (nombre de réactions + 5 réactions supplémentaires) x 0,1 mL

   Volume du TCR-B (mL) = Volume du TCR (mL) / 100

C. Capture de cible

Le pipeteur à répétition utilisé pour la capture de cible et l'amplification doit être réservé à ces étapes uniquement. Consultez *Avertissements et précautions* pour de plus amples informations.

Préparation du portoir

1. Laissez les contrôles ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons**.
3. Confirmez visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
   a. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
   b. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon vaginal.
   c. Un volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
   d. L'absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons APTIMA (specimen transport tube) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Vérifiez les tubes de transport avant de les perforer :
   a. Si un tube de transport contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
   b. Si le tube de transport présente un volume inférieur à celui généralement obtenu lorsque les instructions de collecte ont été respectées, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.
   c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.
   d. Si un échantillon d'urine contient des précipités, chauffez l'échantillon à 37 °C jusqu'à 5 minutes. Si le précipité ne se dissolve pas, vérifiez visuellement qu'il n'interfère pas avec l'obtention de l'échantillon.

   Remarque : *Le non-respect des étapes 4a à 4c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.*

5. Si des échantillons munis de bouchons standard (non pénétrables) sont testés, ils doivent être centrifugés pendant 5 minutes à 420 FCR (force centrifuge relative) pour que la totalité du liquide s'écoule au fond du tube avant de les déboucher. **Évitez les projections et les contaminations croisées.**
6. Placez un nombre suffisant d'unités de dix tubes (Ten Tube Unit, TTU) pour les contrôles et échantillons dans le portoir pour TTU.
7. Si vous désirez établir une liste de travail, faites-le à ce moment-là. Pour créer une liste de travail, référez-vous au *Manuel de l'opérateur du logiciel de test APTIMA (APTIMA Assay Software Operator's Manual).*
8. Mélangez à fond la solution wTCR. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 100 µL dans chaque tube réactionnel.
9. Pour utiliser le logiciel de test APTIMA comme il se doit, le contrôle positif CT / contrôle négatif, GC doit être placé dans la première position de la première TTU.
   a. Tenez le tube de contrôle positif CT / contrôle négatif GC dans une main ou laissez-le dans un portoir. L'étiquette de ce contrôle est rose. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC ». A l'aide d'un micro-pipeteur, perforez le bouchon en veillant à ne pas enfoncer l'embout au fond du tube. Ajoutez 400 µL de contrôle positif CT / contrôle négatif GC dans le premier tube réactionnel.
   b. En procédant de la même manière et à l'aide d'un nouvel embout de pipette, ajoutez 400 µL de contrôle positif, GC / contrôle négatif, CT au second tube réactionnel. L'étiquette de ce second contrôle est bleu-vert. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT ».
10. Continuez la préparation du portoir en ajoutant 400 µL à chaque échantillon dans les tubes réactionnels restants. Utilisez un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon et contrôle. Le volume d'échantillon ou de contrôle pouvant être ajouté à un tube réactionnel est de 400 µL ± 100 µL. Pour de plus amples détails, consultez *Pipetage des contrôles et échantillons* sous *Remarques concernant la procédure*.

Capture de cible

L'utilisation du système de capture de cible (Target Capture System) GEN-PROBE est décrite dans le *Manuel de l'opérateur du système de capture de cible (Target Capture System Operator's Manual).* Si vous utilisez le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/Vortexer), référez-vous à la *fiche d'application du SB100.*

11. Couvrez les TTU avec des cartes de protection et agitez délicatement le portoir manuellement. **Ne pas vortexer.** Faites incuber le portoir à 62 °C ± 1 °C dans un bain-marie pendant 30 ± 5 minutes.
12. Retirez le portoir du bain-marie et séchez le fond des tubes sur un matériau absorbant.
13. Vérifiez que les cartes de protection sont fermement positionnées. Au besoin, remplacez-les par de nouvelles cartes de protection et fermez hermétiquement les TTU.
14. Vortexez le portoir pendant 60 secondes sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes). Pour plus de détails, consultez *Agitation au vortex* sous *Remarques concernant la procédure*. Commencez l'agitation au vortex du portoir dans les 2 minutes qui suivent son retrait du bain-marie.
15. Sans retirer les cartes de protection, incubez le portoir à température ambiante pendant 30 ± 5 minutes.
16. Placez le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 5 à 10 minutes.
17. Amorcez la conduite de la pompe du poste de distribution en pompant la solution de lavage APTIMA dans la rampe de distribution. Pompez une quantité suffisante de liquide dans le système afin qu'il ne reste aucune bulle d'air dans les tubulures et que les dix têtes dispensent un flux régulier de liquide.

18. Mettez la pompe à vide en marche et débranchez la rampe d'aspiration du premier connecteur situé entre la rampe d'aspiration et le flacon piège. Vérifiez que la jauge de dépression soit conforme à la spécification du test pour les fuites.[1] L'obtention de ce chiffre peut prendre 15 secondes. Rebranchez la rampe d'aspiration et vérifiez que la jauge de dépression soit conforme à la spécification du niveau de dépression. N'éteignez pas la pompe à vide avant que toutes les étapes de la capture de cible soient terminées et que la tubulure de la rampe d'aspiration soit sèche.
19. Fixez fermement la rampe d'aspiration au premier jeu d'embouts. Aspirez la totalité du liquide en abaissant les embouts dans la première unité TTU jusqu'à ce qu'ils touchent brièvement le fond des tubes. Ne pas maintenir les embouts en contact avec le fond des tubes.
20. Une fois l'aspiration terminée, éjectez les embouts dans leur TTC d'origine. Recommencez les étapes d'aspiration pour les unités TTU restantes en utilisant un embout par échantillon.
21. Placez la rampe de distribution sur chaque TTU et, à l'aide de la pompe du poste de distribution, versez 1,0 mL de solution de lavage APTIMA dans chacun des tubes de la TTU.
22. Couvrez les tubes avec une carte de protection et retirez le portoir de la base magnétique TCS. Vortexez le portoir une fois sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes). Pour plus de détails, consultez *Agitation au vortex* sous *Remarques concernant la procédure*.
23. Placez le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 5 à 10 minutes.
24. Aspirez tout le liquide comme dans les Étapes 19 et 20.
25. Après l'aspiration finale, retirez le portoir de la base magnétique du TCS et inspectez visuellement les tubes pour vérifier que le liquide a été totalement aspiré et que tous les tubes contiennent des billes de particules magnétiques. S'il reste visiblement du liquide, remettez le portoir sur la base magnétique du TCS pendant 2 minutes et refaites l'aspiration pour cette TTU en utilisant les même embouts que ceux utilisés précédemment avec chaque échantillon.

Remarque : *Si une bille de particule magnétique est visible une fois l'aspiration terminée, le tube peut être accepté. Si aucune bille n'est visible, l'échantillon doit être testé à nouveau. Si le même échantillon ne contient pas de bille de particule magnétique dans cette étape et lors d'une série ultérieure, ceci peut indiquer un problème lié à l'échantillon. Il est alors recommandé d'effectuer une nouvelle collecte de l'échantillon.*

D. Amplification

Si vous utilisez le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/ Vortexer), référez-vous à la *fiche d'application du SB100.*

1. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 75 µL de réactif d'amplification reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels du portoir doivent maintenant être rouges.
2. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 200 µL de réactif huileux dans chaque tube réactionnel.
3. Couvrez les tubes avec une carte de protection et vortexez-les sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes).
4. Faites incuber le portoir à 62 °C ± 1 °C dans un bain-marie pendant 10 ± 5 minutes.
5. Transférez le portoir dans un bain-marie à 42 °C ± 1 °C et incuber pendant 5 ± 2 minutes.

1 Consultez la Fiche des spécifications de dépression du système de capture de cible située au verso du *Manuel de l'opérateur du système de capture de cible (Target Capture System Operator's Manual)* ou contactez le Service technique.

6. Une fois le portoir dans le bain-marie, retirez soigneusement la carte de protection et, à l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 25 µL du réactif enzymatique reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels doivent maintenant avoir une teinte orange.
7. Couvrez immédiatement les tubes avec une nouvelle carte de protection, retirez le portoir du bain-marie et mélangez les tubes réactionnels en agitant délicatement le portoir manuellement.
8. Faites incuber le portoir à 42 °C ± 1 °C dans un bain-marie pendant 60 ± 15 minutes.

E. Double test cinétique (Dual Kinetic Assay, DKA)

Si vous utilisez le bain à chaleur sèche/vortexeur SB100 (SB100 Dry Heat Bath/ Vortexer), référez-vous à la *fiche d'application du SB100.*

Le pipeteur à répétition utilisé pour l'hybridation et la sélection doit être réservé à ces étapes uniquement. Voir *Avertissements et précautions*.

1. Hybridation
   a. Retirez le portoir du bain-marie et transférez-le dans la zone de test DKA. À l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 100 µL du réactif-sonde reconstitué dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels doivent maintenant avoir une teinte jaune.
   b. Couvrez les tubes avec une carte de protection et vortexez-les sur le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes).
   c. Faites incuber le portoir dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 20 ± 5 minutes.
   d. Retirez le portoir du bain-marie et laissez incuber à température ambiante pendant 5 ± 1 minutes.
2. Sélection
   a. A l'aide du pipeteur à répétition, ajoutez 250 µL de réactif de sélection dans chaque tube réactionnel. Tous les mélanges réactionnels doivent maintenant avoir une teinte rouge.
   b. Couvrez les tubes avec une carte de protection, vortexez le portoir pendant 10 secondes ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme, puis incubez-le dans un bain-marie à 62 °C ± 1 °C pendant 10 ± 1 minutes.
   c. Retirez le portoir du bain-marie.
3. Détection

La détection doit être effectuée entre 18 °C et 28 °C.

   a. Incubez le portoir entre 18 °C et 28 °C pendant 15 ± 3 minutes.

Remarque : *Cette plage de température est indispensable pour la performance du test.*

   b. Pour utiliser le LEADER HC+ Luminometer et le logiciel de test APTIMA, référez-vous au *Manuel de l'opérateur du luminomètre LEADER HC+ (LEADER HC+ Luminometer Operator's Manual)* ainsi qu'au *Manuel de l'opérateur du logiciel de test APTIMA (APTIMA Assay Software Operator's Manual).*
   c. Vérifiez que les volumes d'Auto Detect 1 et 2 sont suffisants pour effectuer les tests.
   d. Préparez le LEADER HC+ Luminometer en plaçant une unité TTU vide dans la position de cassette numéro 1 et effectuez le protocole de **Wash** (Lavage).
   e. Chargez les unités TTU dans le luminomètre.
   f. Connectez-vous à l'ordinateur. Cliquez sur **New Run** (nouvelle série), choisissez le protocole de test **APTIMA COMBO 2** puis entrez le nombre de tubes (contrôles et échantillons). Cliquez sur **Next** (suivant) pour commencer la série.

Remarque : *La série doit être complétée dans les 2 heures qui suivent la fin de l'incubation de l'étape de sélection.*

g. Préparez une solution de désactivation en mélangeant un volume équivalent d'hypochlorite de sodium dosé de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M) et de tampon APTIMA pour solution de désactivation dans un récipient en plastique équipé d'un grand couvercle. Mettez une étiquette et inscrivez la date de péremption sur le récipient en plastique. La solution de désactivation reste stable pendant 4 semaines à température ambiante. Jetez la solution de désactivation une fois les 4 semaines écoulées ou après avoir désactivé 100 échantillons traités (si cela survient avant).

h. Après avoir retiré les unités TTU utilisées du luminomètre, placez-les dans le récipient de solution de désactivation. Laissez les unités TTU dans le récipient pendant 15 minutes avant de les jeter. Le responsable du laboratoire devra avoir établi des méthodes de manipulation et d'élimination des déchets adéquates.

Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

Pour utiliser le logiciel de test APTIMA comme il se doit, le contrôle positif CT / contrôle négatif GC doit être placé dans la première position de la première TTU. L'étiquette de ce contrle est rose. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC ». Le contrôle positif GC / contrôle négatif CT doit être placé dans la seconde position de la première TTU. Le contrôle porte une étiquette bleu-vert. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT ». Si ces contrôles sont placés dans la mauvaise position, la série échouera. Tout contrôle supplémentaire doit être entré en tant qu'échantillon de patient et l'opérateur veillera à ce qu'il soit acceptable.

B. Pipetage des contrôles et échantillons

Le volume de contrôle ou d'échantillon ajouté au tube réactionnel doit être de 400 µL ± 100 µL. Il est recommandé d'inspecter visuellement le volume pipeté dans le tube réactionnel pour veiller à ce que le volume transféré soit adéquat. Le volume de contrôle ou d'échantillon doit être adéquat pour obtenir des résultats précis. Si le volume pipeté est incorrect, pipetez à nouveau la solution wTCR ainsi que le contrôle ou l'échantillon dans un nouveau tube réactionnel.

C. Réactifs

La solution de reconstitution de sonde peut se précipiter pendant la conservation. Si tel est le cas, chauffez la solution de reconstitution de sonde à 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cette étape, la solution de reconstitution de sonde peut être utilisée, même s'il reste des précipités de résidus. Une fois la remise en suspension obtenue, mélangez le flacon délicatement par retournement en veillant à ne pas former de mousse.

D. Température

1. Les étapes de capture de cible, d'amplification, d'hybridation et de sélection dépendent de la température. Il est donc impératif que les bains-marie soient maintenus dans des plages de température précises.
2. La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.
3. Les étapes de détection du test doivent être effectuées entre 18 °C et 28 °C.

E. Durée

Les réactions de capture de cible, d'amplification, d'hybridation et de sélection sont toutes fonction du temps écoulé. Respectez les durées indiquées dans la *Procédure de test avec les DTS Systems*.

F. Agitation au vortex

La qualité de l'agitation au vortex est importante pour assurer la bonne performance du test APTIMA COMBO 2. Si l'agitation au vortex est effectuée de manière adéquate, la suspension tourne de manière circulaire à une vitesse capable de faire monter la solution dans la moitié supérieure du tube. Cette manipulation (agitation au vortex) est maintenue pendant une durée précise. Pour vortexer des réactions, réglez la vitesse du vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes) sur le réglage le plus bas, fixez solidement le portoir en place et mettez en marche. Augmentez lentement la vitesse jusqu'à ce que le liquide atteigne la moitié supérieure du tube. Vortexez pendant 10 secondes, la durée recommandée, ou jusqu'à l'obtention d'une teinte uniforme. Ensuite, tournez la vitesse sur le réglage le plus bas avant d'éteindre le vortexeur (mélangeur à tourbillon multi-tubes) et de retirer le portoir. Les mélanges réactionnels ne doivent jamais toucher les cartes de protection.

G. Bains-marie

1. Le niveau d'eau des bains-marie doit avoir une profondeur de 3,8 cm à 5 cm (1,5 po à 2,0 po) depuis le plateau de support métallique (fond du bain-marie) à la surface de l'eau. Cette précaution permettra d'assurer un transfert de chaleur adéquat.
2. Pour éviter toute contamination croisée, les bains-marie doivent être réservés à une étape précise du test.

H. Décontamination

1. Surfaces et pipeteurs

   Les surfaces des paillasses et les pipeteurs du laboratoire doivent être décontaminés régulièrement avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Les solutions à base de chlore peuvent piquer le métal et le matériel. Rincez soigneusement le matériel passé à l'eau de javel pour éviter toute piqûre de corrosion.

2. Rampe d'aspiration TCS
   a. Placez une nouvelle TTC dans le portoir TTC. Mettez la pompe à vide en marche. Fixez la rampe d'aspiration aux embouts de la TTC. Aspirez entièrement la solution de lavage restant dans la cuve d'amorçage du poste de distribution de solution de lavage. (Placez la rampe de distribution de façon à ce qu'elle ne gêne pas.)
   b. Versez au moins 100 mL de solution d'hypochorite de sodium dosée de 0,5 % à 0,7 % (0,07 M à 0,1 M), ou, si vous le préférez, dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M) dans la cuve d'amorçage. Aspirez la totalité de la solution au moyen de la rampe d'aspiration.
   c. Versez au moins 100 mL d'eau désionisée dans la cuve d'amorçage. Aspirez la totalité de l'eau au moyen de la rampe d'aspiration.
   d. Ejectez les embouts dans leur TTC d'origine.
   e. Laissez fonctionner la pompe d'aspiration jusqu'à ce que la tubulure de la rampe soit sèche pour éviter tout refoulement.

f. Décontaminez les surfaces de la rampe d'aspiration comme expliqué sous *Unité TCS*.

3. Récipient à déchets TCS

   Retirez le flacon à déchets du système de capture de cible (Target Capture System) une fois par semaine ou lorsqu'il est rempli à 25 %.

   a. Éteignez la pompe à vide et laissez sa pression s'équilibrer.

   b. Débranchez les raccords à déconnexion rapide entre le flacon à déchets et le flacon de trop-plein, ainsi que le flacon à déchets et la rampe d'aspiration.

   c. Retirez le flacon à déchets du boîtier de piège à vide.

   d. Retirez le bouchon et ajoutez avec précaution 400 mL de solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M) dans le flacon (ou 1 L si vous utilisez un flacon à déchets de 10 L).

      Remarque : *Cette manipulation peut être effectuée sous une hotte pour éviter de libérer des émanations dans le laboratoire.*

   e. Rebouchez le flacon à déchets et tournez délicatement le contenu jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.

   f. Laissez le flacon à déchets reposer pendant 15 minutes, puis jetez le contenu (déchets).

   g. Rincez le flacon à déchets à l'eau pour éliminer tout résidu éventuel.

   h. Rebouchez le flacon vide et mettez-le dans le boîtier du piège à vide. Fixez le raccord à déconnexion rapide sur l'unité TCS. Jetez avec précaution les deux gants.

4. Unité TCS

   Essuyez les surfaces de l'unité TCS, la rampe d'aspiration et la surface des embouts d'éjection du tampon de lavage avec des serviettes en papier humidifiées à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Faites suivre l'étape de javellisation par un rinçage à l'eau, puis séchez complètement les surfaces avec des serviettes en papier.

5. Portoirs

   Faites submerger les portoirs dans une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M) en veillant à ce qu'ils soient recouverts par la solution d'hypochlorite de sodium. Maintenez les portoirs immergés pendant 10 minutes. Toute exposition plus longue endommagerait les portoirs. Rincez soigneusement les portoirs à l'eau et placez-les sur un tampon absorbant propre avant de les laisser sécher parfaitement à l'air libre. Pour prolonger la durée de vie des portoirs, faites-les sécher debout, et non inversés.

I. Contamination des tests

1. L'introduction de substances contaminantes peut survenir si le protocole de test n'est pas rigoureusement respecté.
2. Les TTU doivent être décontaminées dans une solution de désactivation comme indiqué dans le paragraphe *Détection*. Ne pas réutiliser les unités TTU.
3. Effectuez une décontamination régulière du matériel et des surfaces de travail comme expliqué ci-dessus dans le paragraphe *Décontamination* sous *Remarques concernant la procédure*.
4. Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

J. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour les DTS Systems

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon :

1. Marquez les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirez l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifiez l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonnez la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Insérez immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport.
4. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon sur la ligne de score en évitant toute projection du contenu.
5. Rebouchez hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Répétez les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.
7. Analysez l'écouvillon à l'aide du test APTIMA COMBO 2 selon la *Procédure de test avec les DTS Systems*.

   Si les résultats sont positifs ou équivoques pour CT ou GC (consultez *Interprétation du test – QC/Résultats patients*), il est possible que la surface soit contaminée. Elle doit alors être décontaminée à la javel selon les recommandations indiquées au paragraphe *Préparation du matériel* sous *Procédure de test avec les DTS Systems*.

Remarque : *Si l'on soupçonne le bain-marie d'être contaminé, il est possible de le tester en suivant la procédure de test des échantillons d'urine et en ajoutant 2,0 mL d'eau dans un tube de transport d'échantillons d'urine.*

K. Dépannage

1. Des valeurs de contrôle positif faibles peuvent être dues à des températures incorrectes lors des différentes étapes du test, ou à un temps de sélection ayant dépassé la durée recommandée lors de l'étape de sélection.
2. Des bruits de fond élevés peuvent survenir si le temps de sélection de l'étape de sélection est écourté, la sélection de température est incorrecte, ou en cas de mélange insuffisant après l'ajout du réactif de sélection.
3. Si le contrôle positif CT / contrôle négatif GC est positif ou équivoque pour GC, ou si le contrôle positif GC / contrôle négatif CT est positif ou équivoque pour CT, voir *Contamination des tests* sous *Remarques concernant la procédure* pour de plus amples informations.

TIGRIS DTS System

Les réactifs du test APTIMA COMBO 2 destiné à détecter la présence de CT et de GC sont énumérés ci-dessous pour le TIGRIS DTS System. Les symboles d'identification des réactifs figurent également à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Kit de tests APTIMA COMBO 2, 250 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôle) (références 301130 et 301130B)

Boîte réfrigérée APTIMA COMBO 2 (Boîte 1 sur 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
A	**Réactif d'amplification APTIMA COMBO 2** *Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.*	1 flacon
E	**Réactif enzymatique APTIMA COMBO 2** *Transcriptase inverse et polymérase RNA déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de diluant.*	1 flacon
P	**Réactif-sonde APTIMA COMBO 2** *Sondes DNA chimiluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon
TCR-B	**Réactif de capture de cible B APTIMA COMBO 2** *Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	1 x 0,61 mL

Boîte non réfrigérée APTIMA COMBO 2 (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
AR	**Solution de reconstitution de l'amplification APTIMA COMBO 2** *Solution aqueuse contenant des conservateurs.*	1 x 27,7 mL
ER	**Solution de reconstitution enzymatique APTIMA COMBO 2** *Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.*	1 x 11,1 mL
PR	**Solution de reconstitution de sonde APTIMA COMBO 2** *Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 x 35,4 mL
S	**Réactif de sélection APTIMA COMBO 2** *600 mM de solution tamponnée de borate contenant un surfactant.*	1 x 108 mL
TCR	**Réactif de capture de cible APTIMA COMBO 2** *Solution saline tamponnée contenant une phase solide et des oligomères de capture.*	1 x 54 mL
	Collets de reconstitution	3
	Fiche de code-barres du lot de référence	1 fiche

Kit de contrôles APTIMA
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCT/NGC	**Contrôle positif CT / contrôle négatif GC APTIMA** *Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient le rRNA estimé équivalent à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).*	5 x 1,7 mL
PGC/NCT	**Contrôle positif GC / contrôle négatif CT APTIMA** *Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient le rRNA estimé équivalent à 50 cellules de GC (250 fg/test*).*	5 x 1,7 mL

*Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : *Le matériel disponible auprès de Gen-Probe est indiqué par des références catalogue, sauf indication contraire.*

	Référence
TIGRIS DTS System	105118
Kit de solutions pour test APTIMA (APTIMA Assay Fluids Kit) *(solution de lavage APTIMA, tampon APTIMA pour solution de désactivation et réactif huileux APTIMA)*	302382
APTIMA Auto Detect Kit	301048
Kit de conservateur de liquide système APTIMA	302380
Embouts, 1000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Kit pour séries TIGRIS DTS System comprenant *Unités multi-tube (multi-tube unit, MTU) 104772-02* *Kit de sacs pour MTU/embouts usagés 900907* *Déflecteurs de déchets pour MTU 900931* *Couvre-déchets pour MTU 105523*	301191
Kit de transfert d'échantillons APTIMA *à utiliser avec des échantillons dans la solution PreservCyt*	301154C
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal APTIMA	301162
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—

	Référence
Eau pour le TIGRIS DTS System *consultez le Manuel de l'opérateur du TIGRIS DTS System (TIGRIS DTS System Operator's Manual) pour les caractéristiques techniques*	—
Gants jetables	—
SysCheck pour étalonnage	301078
Bouchons pénétrables APTIMA	105668
Bouchons de rechange non pénétrables	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 250 tests	—
Solutions de reconstitution du réactif-sonde et du réactif d'amplification	*CL0041 (100 bouchons)*
Solution de reconstitution du réactif enzymatique	*501616 (100 bouchons)*
Réactifs de sélection et TCR	*CL0040 (100 bouchons)*

Matériel optionnel

	Référence
Kit de contrôles APTIMA	301110
Activateur de javel GEN-PROBE *pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils*	302101

Procédure de test pour le TIGRIS DTS System

Remarque : *Consultez le Manuel de l'opérateur du TIGRIS DTS System (TIGRIS DTS System Operator's Manual) pour de plus amples informations sur la procédure avec ce système.*

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyez les surfaces de travail où les réactifs et les échantillons doivent être préparés. Nettoyez les surfaces de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de paillasse de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.

B. Reconstitution des réactifs/Préparation d'un nouveau kit

Remarque : *La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le TIGRIS DTS System.*

1. Afin de reconstituer les réactifs d'amplification, enzymatiques et de sonde, combinez les bouteilles de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si elles ont été réfrigérées, laissez les solutions de reconstitution parvenir à température ambiante avant l'emploi.
   a. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif lyophilisé ont des étiquettes de couleur correspondantes avant de mettre en place le collet de reconstitution.
   b. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs sont associés correctement.

c. Ouvrez le flacon de réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 2, Étape 1).

d. Ouvrez la bouteille de solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.

e. Tout en tenant la bouteille de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture de la bouteille (Figure 2, Étape 2).

f. Retourner lentement les flacons assemblés. Laisser la solution s'écouler depuis le flacon en plastique dans le flacon en verre (Figure 2, Étape 3).

g. Faites tournoyer délicatement la solution dans le flacon pour la mélanger. Évitez de faire de la mousse dans le flacon pendant cette manipulation (Figure 2, Étape 4).

h. Attendez que le réactif lyophilisé se dissolve, puis retournez à nouveau les flacons assemblés en les inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 2, Étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.

i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, Étape 6).

j. Rebouchez le flacon en plastique. Notez les initiales de l'opérateur et la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 2, Étape 7).

k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 2, Étape 8).

Avertissement : *Évitez de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du TIGRIS DTS System.*

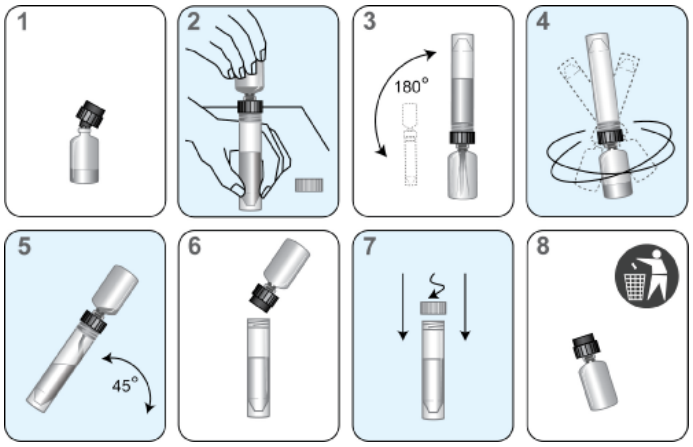

Figure 2. Procédure de reconstitution pour le TIGRIS DTS System et le PANTHER System

2. Préparation de la solution de réactif de capture de cible (Working Target Capture Reagent, wTCR)
   a. Associez les bouteilles de TCR et de TCR-B appropriées.
   b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.
   c. Ouvrez le flacon de TCR et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
   d. Retirez le bouchon du flacon de TCR-B et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
   e. Rebouchez le flacon de TCR et agitez délicatement la solution pour mélanger le contenu. Évitez de créer de la mousse pendant cette étape.

f. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

g. Jetez le flacon de TCR-B et son bouchon.

3. Préparation du réactif de sélection
   a. Vérifiez que le numéro de lot sur le flacon de réactif correspond à celui sur la fiche de code-barres du lot de référence.
   b. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

Remarque : *Mélanger à fond tous les réactifs par retournement en douceur avant de les charger sur le système. Veillez à éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.*

C. Préparation des réactifs (pour les réactifs précédemment reconstitués)
   1. Les réactifs-sonde, d'amplification et enzymatiques précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
   2. Si le réactif-sonde reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffer le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde peut être utilisé même s'il reste des précipités résiduels. Mélangez le réactif-sonde par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger sur le système.
   3. Mélangez à fond chaque réactif par retournement en douceur avant de le charger sur le système. Veillez à éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
   4. Ne pas remplir à nouveau les flacons de réactif. Le TIGRIS DTS System reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

D. Manipulation des échantillons
   1. Laissez les contrôles ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
   2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
   3. Confirmez visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
      a. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
      b. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon vaginal.
      c. Un volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
      d. L'absence d'un écouvillon dans l'APTIMA tube de transport d'échantillons APTIMA (specimen transport tube) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.

4. Inspectez les tubes d'échantillon avant de les charger dans le portoir :
   a. Si un tube de transport contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
   b. Si le tube de transport présente un volume inférieur à celui généralement obtenu lorsque les instructions de collecte ont été respectées, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.
   c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Ne pas perforer un tube trop rempli.
   d. Si un échantillon d'urine contient un précipité, chauffer l'échantillon à 37 °C jusqu'à 5 minutes maximum. Si le précipité ne se dissolve pas, vérifiez visuellement qu'il n'interfère pas avec l'obtention de l'échantillon.

Remarque : *Le non-respect des étapes 4a à 4c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.*

Remarque : *Il est possible de tester jusqu'à 3 aliquots distincts provenant de chaque tube d'échantillon. Les tentatives de pipeter plus de 3 aliquots du tube d'échantillon peuvent entraîner des erreurs d'insuffisance de volume.*

E. Préparation du système

Configurez le système et la liste de travail selon les instructions du *Manuel de l'opérateur du système TIGRIS DTS (TIGRIS DTS System Operator's Manual)* et de la section *Remarques concernant la procédure*.

Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

1. Pour travailler correctement avec le logiciel de test APTIMA pour le TIGRIS DTS System, des contrôles avant et de fin sont nécessaires. Le contrôle positif CT / contrôle négatif GC doit être placé dans la première position et l'avant dernière position d'une liste de travail. L'étiquette de ce contrôle est rose. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + CT PCT / CONTROL – GC NGC ». Le contrôle positif GC / contrôle négatif CT doit être placé dans la seconde position et la dernière position d'une liste de travail. Le contrôle porte une étiquette bleu-vert. Le texte de l'étiquette indique « CONTROL + GC PGC / CONTROL – CT NCT ».
2. Chaque tube de contrôle APTIMA est prévu pour un seul test. Les tentatives de pipeter plus d'une fois à partir du tube peuvent entraîner des erreurs d'insuffisance de volume.

B. Température

La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.

C. Poudre sur les gants

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

D. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour le TIGRIS DTS System

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon :

1. Marquez les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirez l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifiez l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonnez la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Insérez immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport.
4. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon sur la ligne de score en évitant toute projection du contenu.
5. Rebouchez hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Répétez les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

Si les résultats sont positifs ou non probants pour CT ou GC, reportez-vous à la section *Interprétation du test – QC/Résultats patients*. Pour des informations supplémentaires sur le contrôle de la contamination spécifiques au TIGRIS DTS System, consultez le *Manuel de l'opérateur du TIGRIS DTS System*.

PANTHER System

Les réactifs du test APTIMA COMBO 2 destiné à détecter la présence de CT et de GC sont énumérés ci-dessous pour le PANTHER System. Les symboles d'identification des réactifs figurent également à côté du nom du réactif.

Réactifs et matériels fournis

Kit de tests APTIMA COMBO 2

100 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôles) (référence 302923)

250 tests (2 boîtes et 1 kit de contrôles) (référence 303094)

Boîte réfrigérée APTIMA COMBO 2 (Boîte 1 sur 2)
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité Kit de 250 tests	Quantité Kit de 100 tests
A	**Réactif d'amplification APTIMA COMBO 2** *Acides nucléiques déshydratés non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de diluant.*	1 flacon	1 flacon
E	**Réactif enzymatique APTIMA COMBO 2** *Transcriptase inverse et polymérase RNA déshydratées dans une solution tamponnée HEPES contenant < 10 % de diluant.*	1 flacon	1 flacon
P	**Réactif-sonde APTIMA COMBO 2** *Sondes DNA chimiluminescentes non infectieuses déshydratées dans une solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 flacon	1 flacon
TCR-B	**Réactif de capture de cible B APTIMA COMBO 2** *Acides nucléiques non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent.*	1 x 0,61 mL	1 x 0,30 mL

Boîte non réfrigérée APTIMA COMBO 2 (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité Kit de 250 tests	Quantité Kit de 100 tests
AR	**Solution de reconstitution de l'amplification APTIMA COMBO 2** *Solution aqueuse contenant des conservateurs.*	1 x 27,7 mL	1 x 11,9 mL
ER	**Solution de reconstitution enzymatique APTIMA COMBO 2** *Solution tamponnée HEPES contenant un surfactant et du glycérol.*	1 x 11,1 mL	1 x 6,3 mL

Boîte non réfrigérée APTIMA COMBO 2 (Boîte 2 sur 2)
(à conserver entre 15 °C et 30 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité Kit de 250 tests	Quantité Kit de 100 tests
PR	**Solution de reconstitution de sonde APTIMA COMBO 2** *Solution tamponnée de succinate contenant < 5 % de détergent.*	1 x 35,4 mL	1 x 15,2 mL
S	**Réactif de sélection APTIMA COMBO 2** *600 mM de solution tamponnée de borate contenant un surfactant.*	1 x 108 mL	1 x 43,0 mL
TCR	**Réactif de capture de cible APTIMA COMBO 2** *Solution saline tamponnée contenant une phase solide et des oligomères de capture.*	1 x 54 mL	1 x 26,0 mL
	Collets de reconstitution	3	3
	Fiche de code-barres du lot de référence	1 fiche	1 fiche

Kit de contrôles APTIMA
(à conserver entre 2 °C et 8 °C dès la réception)

Symbole	Composant	Quantité
PCT/NGC	**Contrôle positif CT / contrôle négatif GC APTIMA** *Acide nucléique CT non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient le rRNA estimé équivalent à 1 IFU (unité de formation des inclusions) de CT (5 fg/test*).*	5 x 1,7 mL
PGC/NCT	**Contrôle positif GC / contrôle négatif CT APTIMA** *Acide nucléique GC non infectieux dans une solution tamponnée contenant < 5 % de détergent. Chaque échantillon de 400 µL contient le rRNA estimé équivalent à 50 cellules de GC (250 fg/ test*).*	5 x 1,7 mL

*Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Matériel requis mais disponible séparément

Remarque : *Le matériel disponible auprès de Gen-Probe est indiqué par des références catalogue, sauf indication contraire.*

	Référence
PANTHER System	303095
Kit de solutions pour test APTIMA (APTIMA Assay Fluids Kit) *(solution de lavage APTIMA, tampon APTIMA pour solution de désactivation et réactif huileux APTIMA)*	303014 (1000 tests)
APTIMA Auto Detect Kit	303013 (1000 tests)
Unités multi-tube (multi-tube unit, MTU)	104772-02
Kit de sacs à déchets PANTHER	902731
Couvre-déchets PANTHER	902714
Ou Kit pour séries PANTHER *Contient les MTU, les sacs à déchets, les solutions et auto detect*	303096 (5000 tests)
Embouts, 1000 µL, conducteurs, détecteurs de liquide	10612513 (Tecan)
Kit de transfert d'échantillons APTIMA *à utiliser avec des échantillons dans la solution PreservCyt*	301154C
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal APTIMA	301162
Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon	301041
Kit de collecte d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins	301040
Tubes de transport d'échantillons d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins	105575
Javel, solution d'hypochlorite de sodium dosée de 5 % à 7 % (0,7 M à 1,0 M)	—
Gants jetables	—
Solution étalon SysCheck	301078
Bouchons pénétrables APTIMA	105668
Bouchons de rechange non pénétrables	103036A
Bouchons de rechange pour les kits de 250 tests	—
Solutions de reconstitution du réactif-sonde et du réactif d'amplification	*CL0041 (100 bouchons)*
Solution de reconstitution du réactif enzymatique	*501616 (100 bouchons)*
TCR et réactif de sélection	*CL0040 (100 bouchons)*
Bouchons de rechange pour les kits de 100 tests	—
Solutions de reconstitution des réactifs d'amplification, enzymatiques et de sonde	*CL0041 (100 bouchons)*
TCR et réactif de sélection	*501604 (100 bouchons)*

Matériel optionnel

	Référence
Kit de contrôles APTIMA	301110
Activateur de javel GEN-PROBE *pour le nettoyage courant des surfaces et des appareils*	302101

Procédure de test pour le PANTHER System

Remarque : *Consultez le Manuel de l'opérateur du système PANTHER (PANTHER System Operator's Manual) pour de plus amples informations sur la procédure du PANTHER System.*

A. Préparation de la zone de travail

1. Nettoyez les surfaces de travail où les réactifs et les échantillons doivent être préparés. Nettoyez les surfaces de travail avec une solution d'hypochlorite de sodium dosée de 2,5 % à 3,5 % (0,35 M à 0,5 M). Laissez la solution d'hypochlorite de sodium au contact des surfaces pendant au moins 1 minute, puis rincez à l'eau. Ne pas laisser sécher la solution d'hypochlorite de sodium. Couvrez la surface de la paillasse sur laquelle les réactifs et les échantillons seront préparés avec des protections de paillasse de laboratoire absorbantes propres avec envers plastifié.

B. Reconstitution des réactifs/Préparation d'un nouveau kit

Remarque : *La reconstitution des réactifs doit être effectuée avant d'entreprendre toute tâche sur le PANTHER System.*

1. Afin de reconstituer les réactifs d'amplification, enzymatiques et de sonde, mélanger le contenu des bouteilles de réactif lyophilisé à la solution de reconstitution. Si elles ont été réfrigérées, laissez les solutions de reconstitution parvenir à température ambiante avant l'emploi.
   a. Faites correspondre chaque solution de reconstitution avec son réactif lyophilisé. Vérifiez que la solution de reconstitution et le réactif ont des étiquettes de couleur identiques avant de mettre en place le collet de reconstitution.
   b. Vérifiez les numéros de lot sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs sont associés correctement.
   c. Ouvrez le réactif lyophilisé et insérez fermement l'extrémité à encoche du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 3, Étape 1).
   d. Ouvrez le flacon de solution de reconstitution correspondante et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
   e. Tout en tenant le flacon de solution de reconstitution au-dessus de la paillasse, insérez fermement l'autre extrémité du collet de reconstitution dans l'ouverture du flacon (Figure 3, Étape 2).
   f. Retourner lentement les flacons assemblés. Laissez la solution s'écouler depuis la bouteille en plastique vers le flacon en verre (Figure 3, Étape 3).
   g. Faites tournoyer en douceur la solution dans le flacon pour la mélanger. Évitez de faire de la mousse en faisant tournoyer le flacon (Figure 3, Étape 4).
   h. Attendez que le réactif lyophilisé soit dissout, puis retournez à nouveau les flacons assemblés en les inclinant à un angle de 45° pour minimiser la formation de mousse (Figure 3, Étape 5). Laissez la totalité du liquide retourner dans le flacon en plastique.

i. Retirez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 3, Étape 6).

j. Rebouchez le flacon en plastique. Inscrivez les initiales de l'opérateur ainsi que la date de reconstitution sur l'étiquette (Figure 3, Étape 7).

k. Jetez le collet de reconstitution et le flacon en verre (Figure 3, Étape 8).

Avertissement : *Évitez de faire de la mousse en reconstituant les réactifs. La mousse interfère avec le détecteur de niveau du PANTHER System.*

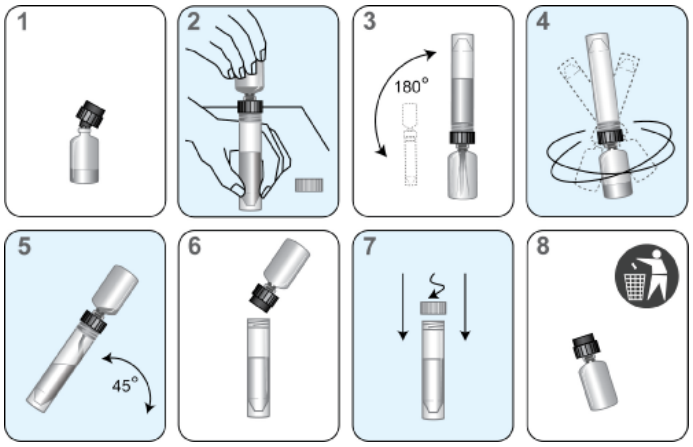

Figure 3. Procédure de reconstitution pour le TIGRIS DTS System et le PANTHER System

2. Préparation de la solution de réactif de capture de cible (Working Target Capture Reagent, wTCR)
   a. Associez les bouteilles de TCR et de TCR-B appropriées.
   b. Vérifiez les numéros de lot des réactifs sur la fiche de code-barres du lot de référence pour vous assurer que les réactifs appropriés du kit se correspondent.
   c. Ouvrez le flacon de TCR et posez le bouchon sur une surface de travail propre et couverte.
   d. Retirez le bouchon du flacon de TCR-B et versez la totalité du contenu dans le flacon de TCR. Il est normal qu'une petite quantité de liquide reste dans le flacon de TCR-B.
   e. Rebouchez le flacon de TCR et agitez délicatement la solution pour mélanger le contenu. Évitez de créer de la mousse pendant cette étape.
   f. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.
   g. Jetez le flacon de TCR-B et son bouchon.
3. Préparation du réactif de sélection
   a. Vérifiez que le numéro de lot sur le flacon de réactif correspond à celui sur la fiche de code-barres du lot de référence.
   b. Notez les initiales de l'opérateur ainsi que la date du jour sur l'étiquette.

Remarque : *Mélangez à fond les réactifs en les retournant doucement avant de les charger dans le système. Évitez la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.*

C. Préparation des réactifs (pour les réactifs précédemment reconstitués)

1. Les réactifs-sonde, d'amplification et enzymatiques précédemment reconstitués doivent parvenir à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le début du test.
2. Si le réactif-sonde reconstitué contient un précipité qui ne se remet pas en solution à température ambiante, chauffer le flacon bouché à une température n'excédant pas 62 °C pendant 1 à 2 minutes. Après cela, le réactif-sonde peut être utilisé même s'il reste des précipités résiduels. Mélangez le réactif-sonde par retournement en veillant à ne pas former de mousse avant de le charger sur le système.
3. Mélangez à fond chaque réactif par retournement en douceur avant de le charger sur le système. Veillez à éviter la formation de mousse pendant le retournement des réactifs.
4. Ne pas remplir à nouveau les flacons de réactif. Le PANTHER System reconnaît et rejette les flacons qui ont été remplis à nouveau.

D. Manipulation des échantillons

1. Laissez les contrôles ainsi que les échantillons parvenir à température ambiante avant toute procédure.
2. **Ne pas vortexer les échantillons.**
3. Confirmez visuellement que chaque tube à échantillon répond à un des critères suivants :
   a. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA bleu dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon unisexe.
   b. La présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA rose dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon vaginal.
   c. Un volume final d'urine situé entre les lignes de remplissage noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine.
   d. L'absence d'un écouvillon dans l'APTIMA tube de transport d'échantillons APTIMA (specimen transport tube) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt.
4. Inspectez les tubes d'échantillon avant de les charger dans le portoir :
   a. Si un tube de transport contient des bulles dans l'espace situé entre le liquide et le bouchon, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour éliminer les bulles.
   b. Si le tube de transport présente un volume inférieur à celui généralement obtenu lorsque les instructions de collecte ont été respectées, centrifugez le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon.
   c. Si le niveau de liquide dans un tube de transport d'urine ne se situe pas entre les deux lignes indicatrices noires, l'échantillon doit être rejeté. Si un tube de transport d'urine présente un volume inférieur à celui généralement observé, centrifuger le tube pendant 5 minutes à 420 FCR pour s'assurer qu'il ne reste pas de liquide dans le bouchon. Ne pas perforer un tube trop rempli.
   d. Si un échantillon d'urine contient un précipité, chauffer l'échantillon à 37 °C jusqu'à 5 minutes maximum. Si le précipité ne se dissolve pas, vérifiez visuellement qu'il n'interfère pas avec l'obtention de l'échantillon.

Remarque : *Le non-respect des étapes 4a à 4c peut entraîner l'écoulement de liquide par le bouchon du tube d'échantillon.*

Remarque : *Il est possible de tester jusqu'à 3 aliquots distincts provenant de chaque tube d'échantillon. Les tentatives de pipetage de plus de 3 aliquots d'un tube d'échantillon peuvent entraîner des erreurs de traitement.*

E. Préparation du système

1. Configurez le système selon les instructions du *Manuel de l'opérateur du système PANTHER (PANTHER System Operator's Manual)* et les *Remarques concernant la procédure*. Veillez à ce que des portoirs à réactifs et des adaptateurs TCR de taille appropriée soient utilisés.
2. Chargez les échantillons.

Remarques concernant la procédure

A. Contrôles

1. Une paire de contrôles doit être utilisée pour permettre au logiciel de test APTIMA pour le PANTHER System de fonctionner correctement. Sur le PANTHER System, les tubes du contrôle positif CT / contrôle négatif GC et du contrôle positif GC / contrôle négatif CT peuvent être placés à n'importe quelle position sur le portoir ou dans n'importe quelle colonne du compartiment à échantillons. Le pipetage des échantillons des patients débutera lorsqu'une des deux conditions suivantes aura été remplie :
   a. Une paire de contrôles est en cours de traitement par le système.
   b. Des résultats validés ont été enregistrés sur le système pour les contrôles.
2. Dès que le pipetage des tubes des contrôles a été réalisé et que ces derniers sont en cours de traitement pour un kit de réactifs défini, l'analyse d'échantillons patient peut se poursuivre pendant 24 heures avec ce même kit **sauf si :**
   a. Les résultats des contrôles sont invalides.
   b. Le kit de réactifs associé aux contrôles est enlevé du système.
   c. La durée de stabilité du kit de réactifs associé aux contrôles a été dépassée.
3. Chaque tube de contrôle APTIMA est prévu pour un seul test. Les tentatives de pipetage répétées (plus d'une fois) à partir d'un même tube peuvent entraîner des erreurs de traitement.

B. Température

La température ambiante est définie comme se situant entre 15 °C et 30 °C.

C. Poudre sur les gants

Comme avec tout système de réactif, l'excès de poudre sur certains gants peut entraîner la contamination des tubes ouverts. Il est recommandé d'utiliser des gants sans poudre.

D. Protocole de contrôle de la contamination en laboratoire pour le PANTHER System

Il existe plusieurs facteurs précis pouvant contribuer à la contamination, notamment le volume de tests, la direction du sens du travail, la prévalence de maladies et diverses activités de laboratoire. Ces facteurs doivent être pris en compte lors de l'établissement de la fréquence du contrôle des contaminations. Les intervalles de contrôle de la contamination doivent être définis en fonction des pratiques et procédures propres à chaque laboratoire.

Pour surveiller la contamination du laboratoire, il est possible d'effectuer la procédure suivante au moyen du kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon :

1. Marquez les tubes de transport des écouvillons avec les numéros correspondants aux zones à tester.
2. Retirez l'écouvillon de collecte d'échantillon (écouvillon à tige bleue avec imprimé vert) de son emballage, humidifiez l'écouvillon dans le milieu du tube de transport de l'écouvillon et écouvillonnez la zone désignée d'un geste circulaire.
3. Insérez immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport.
4. Cassez délicatement la tige de l'écouvillon sur la ligne de score en évitant toute projection du contenu.
5. Rebouchez hermétiquement le tube de transport de l'écouvillon.
6. Répétez les étapes 2 à 5 pour toutes les zones à écouvillonner.

Si les résultats sont positifs ou non probants pour CT ou GC, reportez-vous à la section *Interprétation du test – QC/Résultats patients*. Pour des informations supplémentaires sur le contrôle de la contamination spécifiques au PANTHER System, contactez le Service technique de Gen-Probe.

Interprétation du test – QC/Résultats patients

A. Interprétation des tests

Les résultats des tests sont automatiquement interprétés par le logiciel de test APTIMA au moyen du protocole APTIMA COMBO 2, et présentés sous forme de résultats de test CT et GC individuels. Un résultat de test peut être négatif, équivoque, positif ou invalide comme le déterminent le type de cinétique et le nombre total de RLU dans l'étape de détection (voir ci-dessous). Un résultat de test peut être invalide si l'un des paramètres se situe en dehors des seuils normalement prévus. Si les premiers résultats du test sont équivoques ou non valides, le test doit être refait.

Type cinétique	Total de RLU (x1000) pour obtenir le résultat de CT		
	Négatif	Equivoque	Positif
CT uniquement	1 à < 25	25 à < 100	100 à < 4500
CT et GC	1 à < 85	85 à < 250	250 à < 4500
CT indéterminé	1 à < 85	85 à < 4500	S.O.

Type cinétique	Total de RLU (x1000) pour obtenir le résultat de GC		
	Négatif	Equivoque	Positif
GC uniquement	1 à < 60	60 à < 150	150 à < 4500
GC et CT	1 à < 85	85 à < 250	250 à < 4500
GC indéterminé	1 à < 85	85 à < 4500	S.O.

B. Résultats du contrôle de qualité et acceptabilité

Les contrôle positif CT / contrôle négatif GC et les contrôle positif GC / contrôle négatif CT font office de contrôle pour les étapes de capture de cible, d'amplification et de détection du test. Selon les recommandations ou exigences en vigueur dans votre pays ou auprès des organismes d'accréditation, des contrôles supplémentaire pour la lyse cellulaire et la stabilisation du RNA peuvent être requis. Le contrôle positif CT / contrôle négatif GC sert de contrôle négatif pour tous les résultats de test GC. Le contrôle positif GC / contrôle négatif CT sert de contrôle négatif pour tous les résultats de test CT. Si on le souhaite, un double contrôle négatif fourni par l'utilisateur peut être ajouté pour surveiller le bruit de fond du test. La bonne préparation des échantillons se confirme visuellement par la présence d'un seul écouvillon de collecte APTIMA dans un tube de transport d'échantillons sur écouvillon, ou par un volume final d'urine situé entre les lignes indicatrices noires d'un tube de transport d'échantillons d'urine, ou encore par l'absence d'un écouvillon dans le tube de transport d'échantillons APTIMA pour les échantillons de frottis en milieu liquide.

Les contrôles positifs doivent produire les résultats de test suivants :

Contrôle	Total de RLU (x1000)	Résultat de CT	Résultat GC
Contrôle positif CT / Contrôle négatif GC	≥ 100 et < 3000	Positif	Négatif
Contrôle positif GC / Contrôle négatif CT	≥ 150 et < 3000	Négatif	Positif

1. Le logiciel de test APTIMA évalue automatiquement les contrôles selon les critères ci-dessus et indique que la série a PASS (Réussi) ou a FAIL (Échec) si les critères de contrôle de la série ne sont pas réunis.
2. Si le Run Status (État de la série) indique FAIL (Échec), tous les résultats des tests d'une même série sont invalides et ne doivent pas être pris en compte.

3. Chaque laboratoire devra mettre en place des procédures de contrôle appropriées pour répondre aux exigences des réglementations CLIA (paragraphe 493.1256).

Remarque : *Voir Dépannage ou appeler le Service technique de Gen-Probe pour toute assistance avec des contrôles hors plage sur les DTS Systems.*

4. L'un des paramètres du TIGRIS DTS System permet à chaque site de préciser une fréquence de « série encadrée de contrôles » où des jeux de contrôle supplémentaires peuvent être placés des intervalles définis dans la liste de travail. Si ce paramètre est précisé, le TIGRIS DTS System exigera de placer un jeu de contrôles après le nombre défini d'échantillons de la srie encadrée de contrôles. Le TIGRIS DTS System évalue automatiquement chacun des contrôles de la liste de travail en fonction des critères ci-dessus et invalide tous les échantillons dans la ou les séries encadrées de contrôles affectés si les critères de contrôle ne sont pas réunis. Consultez le *Manuel de l'opérateur du système TIGRIS DTS (TIGRIS DTS System Operator's Manual)* pour de plus amples détails.
5. Les contrôles négatifs peuvent se révéler inefficaces pour surveiller la contamination aléatoire de transfert. Voir *Performance analytique du TIGRIS DTS System* pour consulter les résultats d'une étude analytique sur la contamination de transfert avec une valeur cible élevée qui a été effectuée pour démontrer le contrôle de la contamination de transfert sur le TIGRIS DTS System. Voir *Performance analytique du PANTHER System* pour consulter les résultats d'une étude analytique sur la contamination de transfert avec une valeur cible élevée qui a été effectuée pour démontrer le contrôle de la contamination de transfert sur le PANTHER System.

C. Contrôle de la préparation des échantillons (facultative)

Le contrôle positif CT / contrôle négatif GC et le contrôle positif GC / contrôle négatif CT fournis dans le kit servent de contrôles aux étapes de capture de cible, d'amplification, et dtection du test et doivent être inclus dans chaque série de test. Si on le souhaite, des contrôles de la lyse cellulaire et de la stabilisation de RNA dans un milieu de transport adéquat (solution PreservCyt, STM) peuvent être testés conformément aux recommandations ou exigences des organismes d'accréditation concernés, ou encore selon les procédures de laboratoire individuelles. Les échantillons positifs connus peuvent servir de contrôle s'ils sont préparés et testés avec des échantillons inconnus. Les échantillons utilisés comme contrôles de la préparation doivent être conservés, manipulés et testés conformément à la notice de test. Les contrôles de la préparation des échantillons doivent être interprétés de la même manière que celle recommandée pour les échantillons de patients. Voir les *Résultats des tests de patients* sous *Interprétation du test – QC/Résultats patients.*

D. Résultats des tests de patients

1. Si les contrôles utilisés lors d'une série ne donnent pas les résultats attendus, les résultats des tests des échantillons des patients faisant partie de la même série ne doivent pas être validés.

2. Résultats des échantillons sur écouvillon, des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt et d'urine (voir les remarques ci-dessous).
   a. Résultats initiaux

CT Pos.	Positif pour rRNA CT.
CT Nég.	Présumé négatif pour rRNA CT.
CT Equiv.	L'échantillon devra être testé à nouveau.
GC Pos.	Positif pour rRNA GC.
GC Nég.	Présumé négatif pour rRNA GC.
GC Equiv.	L'échantillon devra être testé à nouveau.
Non valide	L'échantillon devra être testé à nouveau.

   b. Résultats après ré-analyse

CT Pos.	Positif pour rRNA CT.
CT Nég.	Présumé négatif pour rRNA CT.
CT Equiv.	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.
GC Pos.	Positif pour rRNA GC.
GC Nég.	Présumé négatif pour rRNA GC.
GC Equiv.	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.
Non valide	Indéterminé, un nouvel échantillon devra être collecté.

Remarques :

- Il est conseillé de considérer attentivement les données de performance pour interpréter les résultats du test APTIMA COMBO 2 pour les individus asymptomatiques ou tout individu provenant d'une population à faible prévalence d'infection.
- Le premier résultat valide pour chaque analyte est celui qui doit être validé.
- Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'une infection à CT ou GC étant donné que la qualité des résultats dépend de la collecte des échantillons, de l'absence d'inhibiteurs, et de l'obtention d'une quantité de rRNA suffisante pour être détectée. Les résultats des tests peuvent être affectés par une collecte impropre des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique ou une confusion entre échantillons.
- Comme c'est le cas avec toutes les méthodes sans culture, un échantillon positif obtenu sur un patient après un traitement thérapeutique ne peut pas être interprété comme indiquant la présence de CT ou GC viables.
- Comme c'est le cas avec toutes les méthodes de test urinaire, un test d'urine négatif chez une patiente cliniquement soupçonnée d'infection à Chlamydia ou gonococcique n'exclut pas la présence de CT ou GC dans le tractus urogénital. Dans ces situations, il est recommandé de tester un échantillon endocervical. De la même façon, un test d'urine négatif pour GC chez un sujet féminin a une valeur prédictive négative inférieure à celle du résultat d'un écouvillon endocervical.
- Le test d'un échantillon endocervical est recommandé pour les patientes cliniquement soupçonnées d'infection à Chlamydia ou gonococcique. Si un frottis et un écouvillon endocervical sont collectés, l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt doit être collecté avant l'échantillon endocervical sur écouvillon.

Limites

A. L'utilisation de ce test est limitée au personnel ayant été formé à la procédure. Le non-respect des instructions figurant dans cette notice peut donner lieu à des résultats erronés.

B. Les échantillons sur écouvillon ont été évalués avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems pour la recherche d'éventuelles interférences avec le sang, les lubrifiants gynécologiques et les spermicides. Les échantillons d'urine ont été évalués pour la recherche d'éventuelles interférences avec le sang, des vitamines couramment utilisées, des minéraux, et des analgésiques en vente libre. L'éventuelle interférence avec le sang a été aussi évaluée sur le TIGRIS DTS System et le PANTHER System. Les données n'ont souligné aucune interférence de ces substances sur le test.

C. Les effets de l'utilisation de tampons hygiéniques, de toilettes vaginales, et l'impact des variables de la collecte des échantillons n'ont pas été évalués pour la détection de CT ou GC.

D. La présence de mucus dans les échantillons endocervicaux n'interfère pas avec la détection de CT ou de GC par le test APTIMA COMBO 2. Toutefois, afin d'assurer la collecte des cellules infectées par CT, les cellules épithéliales cylindriques tapissant la région endocervicale doivent être échantillonnées. Si l'excès de mucus n'est pas retiré, l'échantillonnage de ces cellules n'est pas assuré.

E. Cette méthode a été testée en utilisant uniquement les échantillons suivants :

- Échantillons endocervicaux, vaginaux, et urétraux mâles collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon
- Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt collectés par un clinicien
- Échantillons vaginaux collectés par les patientes à l'aide d'un écouvillon
- Échantillons d'urine féminins et masculins collectés par les patients

La performance avec des échantillons autres que ceux collectés avec les kits de collecte d'échantillons suivants n'a pas été évaluée :

- Kit de collecte d'échantillons - écouvillon unisexe APTIMA pour échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon
- Kit de collecte d'urine APTIMA pour échantillons d'urine masculins et féminins
- Kit de collecte d'échantillons - écouvillon vaginal APTIMA
- Kit de transfert d'échantillons APTIMA (à utiliser avec les échantillons gynécologiques collectés dans la solution PreservCyt)

Recommandations spécifiques aux DTS Systems

- Kit de prélèvement d'échantillons PACE pour échantillons urétraux mâles ou conjonctivaux (en conjonction avec le kit d'adaptateur APTIMA)
- Kit de collecte d'échantillons PACE pour échantillons endocervicaux (en conjonction avec le kit d'adaptateurs APTIMA)

F. L'échantillonnage des échantillons d'urine, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt n'est pas destiné à remplacer les examens cervicaux et les échantillons endocervicaux dans le diagnostic des infections urogénitales chez la femme. Les patientes peuvent souffrir de cervicites, urétrites, infections urinaires ou infections vaginales dues à d'autres causes ou à des infections parallèles par d'autres agents.

G. Le test APTIMA COMBO 2 n'est pas prévu pour l'évaluation d'abus sexuels présumés ou à d'autres fins médico-légales. Pour les patients chez qui des résultats faussement

positifs peuvent avoir un impact psychosocial défavorable, le CDC recommande d'effectuer un nouveau test (4).

H. La fiabilité des résultats dépend de la qualité de la collecte des échantillons. Étant donné que le système de transport utilisé pour ce test ne permet pas l'évaluation microscopique de la qualité des échantillons, il est nécessaire que les cliniciens soient formés aux techniques de collecte d'échantillons appropriées. Consultez la notice du kit de collecte d'échantillons GEN-PROBE correspondante.

I. L'échec ou la réussite d'une thérapie ne peut être déterminé par le test APTIMA COMBO 2 étant donné que les acides nucléiques peuvent persister après une thérapie antimicrobienne appropriée.

J. Les résultats du test APTIMA COMBO 2 doivent être interprétés en conjonction avec les autres données de laboratoire et cliniques dont dispose le clinicien.

K. Un résultat négatif n'exclut pas une éventuelle infection étant donné que les résultats dépendent la qualité de la collecte de l'échantillon. Les résultats des tests peuvent être affectés par une collecte impropre des échantillons, une mauvaise conservation des échantillons, une erreur technique, une confusion entre échantillons, ou des niveaux de cible inférieurs au seuil de détection du test.

L. Le test APTIMA COMBO 2 fournit des résultats qualitatifs. Il n'est donc pas possible d'établir une corrélation entre la magnitude d'un signal de test positif et le nombre d'organismes dans un échantillon.

M. Concernant les études cliniques des échantillons vaginaux, endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine, les caractéristiques de performance de la détection de CT et GC sont obtenues chez des populations à forte prévalence d'infection. Des résultats positifs chez des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant que la probabilité d'obtenir des résultats faux positifs peut être supérieure à celle d'obtenir des résultats vrais positifs.

N. Concernant les études cliniques des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, la performance du test APTIMA COMBO 2 pour la détection de CT et de GC provient essentiellement de populations à faible prévalence d'infections. Néanmoins, des résultats positifs dans des populations à faible prévalence doivent être interprétés avec prudence sachant que le nombre de résultats faussement positifs peut être supérieur à celui des résultats vraiment positifs.

O. La performance du kit de transfert d'échantillons APTIMA n'a pas été évaluée pour ce qui est de l'analyse d'un même échantillon de frottis en solution PreservCyt avant et après l'analyse par le système ThinPrep.

P. Les échantillons de frottis en solution PreservCyt traités par des instruments autres que le processeur ThinPrep 2000 n'ont pas été évalués par rapport à leur utilisation dans des tests APTIMA.

Q. Les échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal offrent une option de dépistage chez les femmes lorsqu'un examen pelvien n'est pas autrement indiqué.

R. L'utilisation d'échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal est limitée aux centres de soins de santé où des conseils/un soutien sont offerts pour expliquer les procédures et précautions d'emploi.

S. Le test APTIMA COMBO 2 n'a pas été validé pour être utilisé avec des échantillons collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon vaginal à domicile.

T. La performance des échantillons vaginaux sur écouvillon n'a pas été évaluée chez les femmes enceintes.

U. La performance des échantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux masculins sur écouvillon, des échantillons d'urine masculins et féminins, et des échantillons de frottis en solution PreservCyt n'a pas évaluée chez des adolescents de moins de 16 ans.

V. La performance du TIGRIS DTS System n'a pas été déterminée à des altitudes supérieures à 2240 mètres. Des vérifications volumétriques ainsi que des études spécifiques au test supplémentaires seront effectuées avant, ou dans le cadre du processus d'installation et d'acceptation pour les laboratoires situés à une altitude supérieure à 2240 mètres.

W. La performance du PANTHER System n'a pas été déterminée à des altitudes supérieures à 2000 mètres.

X. Il n'existe aucune preuve de la dégradation des acides nucléiques dans la solution PreservCyt. Si un échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt présente une faible quantité de matériel cellulaire de CT et GC, il peut se produire une distribution irrégulière de ce matériel cellulaire. De même, lorsqu'on le compare à l'échantillonnage direct avec le milieu de transport d'échantillons APTIMA, le volume additionnel de la solution PreservCyt donne des dilutions plus importantes du matériel échantillonné. Ces facteurs peuvent affecter la capacité à détecter des petites quantités d'organismes dans le matériel collecté. Si les résultats négatifs de l'échantillon ne correspondent pas à l'impression clinique, il peut être nécessaire d'utiliser un nouvel échantillon.

Y. Les clients doivent valider indépendamment un processus de transfert LIS.

Valeurs attendues pour les DTS Systems

Prévalence

La prévalence d'infections à CT et/ou GC dans les populations de patients dépend des facteurs de risque tels que l'âge, le sexe, la présence de symptômes, le type de clinique et la méthode de test. Un résumé de la prévalence des résultats de trois situations de CT et de GC obtenus par le test APTIMA COMBO 2 est présenté dans les tableaux 1a, 1b et 1c pour trois études cliniques multicentriques. Les résultats sont présentés par site clinique et de manière globale.

Prévalence des infections à *C. trachomatis* et/ou *N. gonorrhoeae* telle que déterminée par les résultats du test APTIMA COMBO 2 par site clinique

Tableau 1a : Échantillons endocervicaux et urétraux mâles, et échantillons d'urine

Site	Écouvillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon % prévalence (nbre positifs/nbre testés)						Urine % prévalence (nbre positifs/nbre testés)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	10,0	(39/392)	12,8	(50/392)	14,5	(57/392)	8,4	(33/395)	12,9	(51/395)	13,9	(55/395)
2	7,0	(13/186)	12,9	(24/186)	6,5	(12/186)	5,3	(13/245)	13,9	(34/245)	8,6	(21/245)
3	10,4	(48/462)	22,9	(106/462)	14,3	(66/462)	10,3	(48/465)	20,9	(97/465)	12,7	(59/465)
4	3,3	(9/270)	12,2	(33/270)	7,0	(19/270)	3,3	(9/270)	11,5	(31/270)	6,7	(18/270)
5	1,9	(10/533)	8,4	(45/533)	2,3	(12/533)	2,1	(12/567)	9,4	(53/567)	1,8	(10/567)
6	6,3	(43/678)	12,8	(87/678)	16,2	(110/678)	5,9	(40/681)	10,9	(74/681)	13,5	(92/681)
7	4,4	(11/252)	8,7	(22/252)	21,8	(55/252)	4,1	(12/295)	9,2	(27/295)	18,0	(53/295)
Tous	6,2	(173/2773)	13,2	(367/2773)	11,9	(331/2773)	5,7	(167/2918)	12,6	(367/2918)	10,6	(308/2918)

Tableau 1b : Échantillons vaginaux collectés par la patiente à l'aide d'un écouvillon et échantillons vaginaux collectés par un clinicien à l'aide d'un écouvillon

Site	Écouvillon vaginal collecté par la patiente % prévalence (nbre positifs/nbre testés)						Écouvillon vaginal collecté par un clinicien % prévalence (nbre positifs/nbre testés)					
	CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+		CT+/GC+		CT+/GC-		CT-/GC+	
1	1,8	(4/220)	16,4	(36/220)	4,1	(9/220)	3	(7/230)	15,7	(36/230)	3,5	(8/230)
2	9,6	(19/198)	18,7	(37/198)	6,6	(13/198)	9,5	(19/199)	18,1	(36/199)	7	(14/199)
3	0,9	(1/111)	9	(10/111)	2,7	(3/111)	0,9	(1/113)	9,7	(11/113)	1,8	(2/113)
4	0,4	(1/266)	9	(24/266)	1,9	(5/266)	0,4	(1/267)	11,2	(30/267)	2,2	(6/267)
5	0,5	(1/199)	7,5	(15/199)	0,5	(1/199)	0,5	(1/199)	7	(14/199)	0,5	(1/199)
6	2,8	(8/290)	10	(29/290)	5,5	(16/290)	2	(6/296)	12,2	(36/296)	5,4	(16/296)
7	0	(0/102)	11,8	(12/102)	0	(0/102)	0	(0/102)	9,8	(10/102)	0	(0/102)
8	0	(0/48)	8,3	(4/48)	2,1	(1/48)	0	(0/51)	7,8	(4/51)	2	(1/51)
Tous	2,4	(34/1434)	11,6	(167/1434)	3,3	(48/1434)	2,4	(35/1457)	12,1	(177/1457)	3,3	(48/1457)

Tableau 1c : Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Site	Frottis en milieu liquide PreservCyt % prévalence (nbre positifs/nbre)		
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+
1	3,0 (3/100)	13,0 (13/100)	2,0 (2/100)
2	0 (0/124)	3,2 (4/124)	0,8 (1/124)
3	0,4 (2/475)	6,1 (29/475)	0,4 (2/475)
4	0,4 (1/287)	4,2 (12/287)	0 (0/287)
5	0 (0/297)	5,1 (15/297)	1,0 (3/297)
6	0 (0/364)	5,5 (20/364)	0,6 (2/364)
TOUS	0,4 (6/1647)	5,6 (93/1647)	0,6 (10/1647)

Les prévalences de CT et de GC ont été calculées en utilisant les résultats du test APTIMA COMBO 2 de l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt.

Valeurs prédictives positives et négatives des taux de prévalence hypothétiques en Amérique du Nord

Les valeurs prédictives positives et négatives (PPV et NPV) estimées pour différents taux de prévalence en utilisant le test APTIMA COMBO 2 sont présentées dans les tableaux 2 et 3, pour CT et GC respectivement. Ces calculs sont basés sur la prévalence hypothétique d'une sensibilité et d'une spécificité générales calculées d'après l'état d'infection des patients dans deux études cliniques multicentriques. La sensibilité et spécificité globales pour CT étaient respectivement de 96,1 % et 98,0 % (tableau 2). La sensibilité et spécificité globales pour GC étaient respectivement de 97,8 % et 99,2 % (tableau 3). Les PPV et NPV réelles calculées en utilisant les données des études cliniques sont présentées dans les tableaux 6a et 10a (échantillons sur écouvillon et d'urine), les tableaux 6b et 10b (échantillons vaginaux sur écouvillon) et les tableaux 6c et 10c (échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt).

Tableau 2 : PPV et NPV hypothétiques pour CT

Taux de prévalence (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Valeur prédictive positive (%)	Valeur prédictive négative (%)
1	96,1	98,0	33,1	100,0
2	96,1	98,0	50,0	99,9
5	96,1	98,0	72,0	99,8
10	96,1	98,0	84,5	99,6
15	96,1	98,0	89,6	99,3
20	96,1	98,0	92,4	99,0
25	96,1	98,0	94,2	98,7
30	96,1	98,0	95,4	98,3

Tableau 3 : PPV et NPV hypothétiques pour GC

Taux de prévalence (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Valeur prédictive positive (%)	Valeur prédictive négative (%)
1	97,8	99,2	55,3	100,0
2	97,8	99,2	71,4	100,0
5	97,8	99,2	86,6	99,9
10	97,8	99,2	93,2	99,7
15	97,8	99,2	95,6	99,6
20	97,8	99,2	96,8	99,4
25	97,8	99,2	97,6	99,2
30	97,8	99,2	98,1	99,0

Performance clinique du test avec les DTS Systems

Consultez *Concordance des échantillons cliniques pour le TIGRIS DTS System* après la section *Performance analytique des DTS Systems* pour les caractéristiques de performance clinique spécifiques au TIGRIS DTS System.

Résultats des études cliniques

Les caractéristiques de performance du test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems ont été établies lors de trois études cliniques multicentriques effectuées en Amérique du Nord. La première étude clinique multicentrique a évalué des échantillons endocervicaux et urétraux mâles collectés par des cliniciens à l'aide d'un écouvillon et des échantillons d'urine masculins et féminins provenant de 1363 sujets masculins et 1569 sujets féminins enrôlés dans sept sites cliniques géographiquement répartis. La seconde étude clinique multicentrique a évalué des échantillons vaginaux collectés par la patiente et par un clinicien à l'aide d'un écouvillon chez 1464 sujets féminins enrôlés dans huit sites cliniques géographiquement répartis. La troisième étude clinique multicentrique a évalué les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt provenant de 1647 sujets enrôlés sur six sites cliniques. Lors des calculs de performance basés sur l'état des symptômes, les sujets ont été classés comme symptomatiques s'ils ont fait état de décharges, dysuries, et douleurs pelviennes et autres symptômes de cet ordre. Les sujets ont été classés comme asymptomatiques s'ils n'ont fait état d'aucun symptôme.

Étude clinique des échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon et d'urine

Dans l'étude clinique multicentrique des échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux sur écouvillon et d'urine, 2932 sujets masculins et féminins symptomatiques et asymptomatiques ayant consulté dans des cliniques pour MST, des gynécologues/obstétriciens et des centres de planning familial ont été enrôlés dans l'étude. Jusqu'à trois écouvillons urétraux et un échantillon d'urine ont été collectés chez les sujets masculins et quatre écouvillons endocervicaux et un échantillon d'urine chez les sujets féminins. Pour les sujets masculins fournissant un écouvillon urétral, le test comprenait uniquement la culture de GC. Pour les sujets masculins fournissant trois écouvillons, les tests comprenaient la culture de GC, le test APTIMA COMBO 2 et des NAAT disponibles dans le commerce pour CT et GC. Les tests des écouvillons endocervicaux comprenaient le test APTIMA COMBO 2, deux NAAT du commerce pour CT, un NAAT du commerce pour GC, et la culture de GC. L'écouvillon de culture de GC a été collecté en premier et l'ordre de collecte des écouvillons restants a été alterné pour minimiser les biais de prélèvement. L'urine a été testée avec le test APTIMA COMBO 2, deux NAAT disponibles dans le commerce pour CT, et un test amplifié du commerce pour GC. Les tests d'amplification disponibles dans le commerce ont été utilisés comme tests de référence dans l'étude clinique du test APTIMA COMBO 2.

Tous les calculs de performance ont été basés sur le nombre total d'échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon et d'échantillons d'urine masculins et féminins du test APTIMA COMBO 2 comparés à un algorithme de l'état d'infection des patients pour chacun des deux sexes. Dans chaque algorithme spécifique au sexe, la désignation d'un sujet comme étant infecté, non infecté, ou avec résultats non concluant se basait sur les résultats combinés des écouvillons endocervicaux et urétraux mâles du NAAT de référence et des échantillons d'urine. Concernant l'état d'infection à CT, deux résultats positifs avec un NAAT de référence de toute forme de combinaison d'écouvillon et d'échantillon d'urine désignaient le sujet comme étant infecté. Si tous les résultats du test de référence étaient négatifs, le sujet était désigné comme non infecté. Si un seul résultat était positif, le sujet était désigné comme non concluant. Concernant l'état d'infection à GC, une

culture positive, ou des résultats d'écouvillon ou d'urine positifs avec le test amplifié de référence, désignaient le sujet comme étant infecté. Une culture négative accompagnée d'un seul résultat positif avec le test amplifié de référence donnait lieu à un état non concluant. Si tous les résultats du test de référence étaient négatifs, le sujet était désigné comme non infecté. Les tableaux 7a, 7b, 7c, 8, 11a, 11b, 11c et 12 résument la fréquence des résultats de test pour les deux NAAT de référence et le test APTIMA COMBO 2 pour les sujets des études cliniques.

Les résultats du test APTIMA COMBO 2 pour les échantillons endocervicaux et urétraux mâles collectés par des cliniciens à l'aide d'un écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine masculins et féminins, ont été comparés à l'algorithme de l'état d'infection des patients pour déterminer la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives. Au total 15 661 résultats de test CT et 14 144 de test GC ont été utilisés dans l'analyse de données. La sensibilité et la spécificité à CT par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées au tableau 5a. Le tableau 6a compare la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test APTIMA COMBO 2 pour CT à l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale. La sensibilité et la spécificité de détection de GC par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées dans le tableau 9a. Le tableau 10a compare la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test APTIMA COMBO 2 pour GC à l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale. Les échantillons positifs avec le test APTIMA COMBO 2 et avec un état d'infection des patients négatif (autrement dit, faussement positifs en apparence) ont été testés avec d'autres tests d'amplification GEN-PROBE pour CT et GC. Ces tests amplifient des séquences de CT et GC qui sont différentes de celles amplifiées avec le test APTIMA COMBO 2. Les tests ont été effectués sur un échantillon à la fois (autrement dit, pas nécessairement sur des échantillons sur écouvillon et d'urine associés) et les résultats des tests d'amplification alternatifs n'ont pas été utilisés pour changer les catégories initiales des patients (tableaux 5a et 9a).

L'impact du sang a été évalué dans les échantillons endocervicaux sur écouvillon pour établir la performance des tests CT et GC. Sur les 2454 échantillons dont la performance CT a été valuée, 234 (9,5 %) étaient teintés de sang. Sur les 2829 échantillons dont la performance GC a été évaluée, 247 (8,7 %) étaient teintés de sang. La performance du test aussi bien pour CT que pour GC n'a pas été statistiquement différente pour les échantillons teintés de sang que pour ceux qui ne l'étaient pas. Des informations supplémentaires sur les tests de détection du sang peuvent être consultées sous *Substances interférentes*.

La performance du test avec des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine chez les femmes enceintes a été évaluée lors de l'étude clinique. Pour CT, la sensibilité des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine a été respectivement de 100 % (8/8) et 100 % (8/8). La spécificité des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine a été respectivement de 95,8 % (23/24) et 100 % (24/24). Pour GC, la sensibilité des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine a été respectivement de 100 % (8/8) et 100 % (8/8). La spécificité des échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine a été respectivement de 100 % (26/26) et 100 % (26/26).

Sur les 11 406 résultats des tests APTIMA COMBO 2 de cette étude clinique multicentrique, trois résultats pour CT et neuf pour GC étaient équivoques sur les tests successifs et ont été exclus de l'analyse. Un échantillon était invalide pour les résultats CT et GC et a été exclu de l'étude.

Étude clinique des échantillons vaginaux sur écouvillon

Dans l'étude clinique multicentrique des écouvillons vaginaux, 1464 sujets féminins symptomatiques et asymptomatiques se rendant dans des centres pour MST, chez des gynécologues/obstétriciens, dans des cliniques pour adolescents et des centres de planning familiaux, ont été évalués lors de l'étude clinique. Sur les 646 sujets asymptomatiques participant à l'étude, deux avaient moins de 16 ans, 158 entre 16 et 20 ans, 231 entre 21 et 25 ans, et 255 avaient plus de 25 ans. Sur les 818 sujets symptomatiques participant à l'étude, 160 avaient entre 16 et 20 ans, 324 entre 21 et 25 ans, et 334 avaient plus de 25 ans. Cinq échantillons ont été recueillis chez sujet éligible : un échantillon d'urine, un échantillon vaginal sur écouvillon collecté par la patiente, un échantillon vaginal sur écouvillon collecté par un clinicien et échantillons endocervicaux randomisés sur écouvillon. Les résultats du test APTIMA COMBO 2 ont été obtenus à partir des deux écouvillons vaginaux, d'un des écouvillons endocervicaux, et d'un aliquot de l'échantillon d'urine. Le deuxième écouvillon endocervical et le deuxième aliquot de l'échantillon d'urine ont été testés en utilisant un autre NAAT disponible dans le commerce pour CT ainsi qu'un autre NAAT disponible dans le commerce pour GC. Les échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine testés avec le test APTIMA COMBO 2 ainsi que les autres NAAT disponibles dans le commerce ont été utilisés comme NAAT de référence pour déterminer l'état d'infection de chaque sujet de l'étude clinique des échantillons vaginaux sur écouvillon. L'analyse des échantillons a été effectuée soit sur le site d'enrôlement des sujets, soit dans un site d'analyse externe.

Tous les calculs de performance ont été basés sur le nombre total des résultats du test APTIMA COMBO 2 pour les écouvillons vaginaux collectés par des patientes et par des cliniciens comparés à l'algorithme de l'état d'infection d'un patient. Au total 2073 résultats de test CT et 2073 de test GC ont été utilisés dans l'analyse de données. Dans l'algorithme, la désignation d'un sujet comme étant infecté ou non infecté par CT ou GC était basée sur les résultats des échantillons endocervicaux sur écouvillon ou d'urine du test APTIMA COMBO 2 disponible dans le commerce ainsi que de l'autre NAAT du commerce. Les sujets étaient considérés infectés par CT or GC si deux des quatre échantillons endocervicaux sur écouvillon et d'urine étaient positifs avec le test APTIMA COMBO 2 et l'autre NAAT de référence (un échantillon testant positif dans chaque NAAT). Les sujets étaient considérés non infectés si moins de deux résultats NAAT de référence étaient positifs. Les tableaux 7b et 11b résument le nombre des résultats de sujets symptomatiques et asymptomatiques désignés comme infectés ou non infectés respectivement par CT ou GC, selon l'algorithme de l'état d'infection des patients. Pour cette étude clinique, deux NAAT disponibles dans le commerce ont été utilisés afin de déterminer l'état d'infection à GC. La culture de cellules n'a pas été utilisée comme test de référence car les résultats du test APTIMA COMBO 2 ont déjà été comparés à ceux de la culture de cellules pour d'autres types d'échantillons (se référer à l'*Étude clinique des échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon et d'urine* pour de plus amples details.

La sensibilité et la spécificité de détection de CT par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées dans le tableau 5b. Le tableau 6b présente la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test APTIMA COMBO 2 pour CT comparé à l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale. La sensibilité et la spécificit de détection de GC par sexe, type d'échantillon et état des symptômes sont présentées dans le tableau 9b. La tableau 9b présente la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives du test APTIMA COMBO 2 pour GC comparé à l'état d'infection des patients par site clinique et de manière globale. Les échantillons pour lesquels le test APTIMA COMBO 2 était positif alors que l'état d'infection du patient était négatif (c.-à-d. à priori des faux-positifs) ont été analysés par des tests TMA alternatifs pour CT et GC ; les séquences cibles de ces tests TMA alternatifs était distinctes de celles ciblées par le test APTIMA COMBO 2. Les résultats des tests TMA alternatifs n'ont pas être utilisés pour modifier les catégories initiales des patients (tableaux 5b et 9b).

Sur les 1464 sujets enrôlés, 13 sujets avaient un état d'infection à CT inconnu et 14 sujets un état d'infection à GC inconnu. Les sujets ont été désignés comme ayant un état d'infection inconnu si des résultats incomplets empêchaient de déterminer de manière concluante leur état d'infection. Les résultats obtenus auprès de ces sujets n'ont été inclus dans aucuns des calculs de performance. Sur les 5782 résultats d'écouvillons vaginaux du test APTIMA COMBO 2 de l'étude clinique multicentrique, seul un faible pourcentage (28, 0,5 %) d'échantillons vaginaux sur écouvillon a initialement donné des résultats de test invalides ou équivoques pour CT ou GC. Lors des tests de répétition, seulement trois résultats CT et deux résultats GC étaient équivoques et ont été exclus de l'analyse. Aucun échantillon n'a été testé comme invalide lors des tests de répétition.

Etude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Une étude clinique prospective multicentrique a été effectuée pour évaluer l'utilisation de la solution PreservCyt (un composant du ThinPrep 2000 System) comme milieu alternatif pour les échantillons gynécologiques dans la détection de CT et GC. Mille six-cent quarante-sept (1647) sujet féminins symptomatiques et asymptomatiques se rendant chez des gynécologues/ obstétriciens, des centres de planning familial, des dispensaires, et des cliniques pour femmes et pour MST, ont été évaluées lors de l'étude clinique. Sur les 1647 sujets évaluables, 1288 étaient des sujets asymptomatiques et 359 des sujets symptomatiques. Les sujets ont été enrôlés dans des sites où la prévalence de CT s'échelonnait de 3,2 % à 14,0 %, et de 0,0 % à 5,0 % pour GC. Deux échantillons ont été recueillis chez chaque sujet éligible : un frottis en milieu liquide PreservCyt et un échantillon endocervical sur écouvillon. Les échantillons de frottis en solution PreservCyt ont été traités conformément au Manuel de l'opérateur du processeur ThinPrep 2000 et à la notice du kit de transfert d'échantillons APTIMA. Après traitement de l'échantillon de frottis en milieu liquide PreservCyt avec le processeur ThinPrep 2000, l'échantillon a été transféré dans le kit de transfert d'échantillons APTIMA pour être testé à l'aide du test APTIMA COMBO 2. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt et les échantillons endocervicaux sur écouvillon ont été testés à l'aide du test APTIMA COMBO 2.

La sensibilité et la spécificité des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été calculées en comparant les résultats à un algorithme de l'état d'infection des patients. Dans l'algorithme, la désignation d'un sujet comme étant infecté ou non infecté par CT ou GC était basée sur les résultats des échantillons endocervicaux sur écouvillon ou d'urine de deux NAAT disponibles dans le commerce (Tableaux 7c et 11c). Concernant CT, les NAAT de référence comprenaient le test APTIMA COMBO 2 et le test APTIMA CT. Concernant GC, les NAAT de référence comprenaient le test APTIMA COMBO 2 et le test APTIMA GC. Les résultats positifs des deux NAAT de référence étaient nécessaires pour établir *l'infection* du patient. Le patient était jugé *non infecté* en cas de discordance ou de résultats négatifs avec les deux NAAT de référence.

La sensibilité et la spécificité de détection de CT obtenues pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt testés avec le test APTIMA COMBO 2 sont présentées par état des symptômes et de manière globale dans le tableau 5c. Concernant CT, la sensibilité a été de 96,7 % (87/90) sur l'ensemble. Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, la sensibilité était respectivement de 96,7 % (29/30) et 96,7 % (58/60). La spécificité pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt était de 99,2 % (1545/1557) sur l'ensemble. Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, les spécificités étaient respectivement de 98,5 % (324/329) et 99,4 % (1221/1228). Le tableau 6c donne les valeurs de spécificité et de sensibilité du test APTIMA COMBO 2 pour CT dans les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt par site clinique et de manière globale. Concernant CT, la sensibilité s'échelonnait de 92,9 % à 100 %. La spécificité s'échelonnait de 97,7 % à 100 %.

La sensibilité et la spécificité de détection de GC obtenues pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt testés avec le test APTIMA COMBO 2 sont présentées par état des symptômes et de manière globale dans le tableau 9c. Pour GC, la sensibilité globale était de 92,3 % (12/13). Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, la sensibilité était respectivement de 100 % (7/7) et 83,3 % (5/6). La spécificité globale des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt était de 99,8 % (1630/1634). Chez les sujets symptomatiques et asymptomatiques, la spécificité était respectivement de 100 % (352/352) et 99,7 % (1278/1282). Le tableau 10c donne les valeurs de spécificité et de sensibilité du test APTIMA COMBO 2 pour GC dans les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt par site clinique et de manière globale. Concernant GC, la sensibilité s'échelonnait de 80,0 % à 100 %. La spécificité s'échelonnait de 99,0 % à 100 %.

La distribution des dispositifs d'échantillonnage cervical de cette étude clinique est décrite par site clinique dans le tableau 4.

Tableau 4 : Résumé concernant les dispositifs d'échantillonnage cervical utilisés ans l'étude des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Dispositif d'échantillonnage cervical	Site clinique de collecte						Total
	1	2	3	4	5	6	
Spatule/cytobrosse	0	124	475	287	57	364	1307
Dispositif endocervical de type balai	100	0	0	0	240	0	340

Tableaux des performances pour *Chlamydia trachomatis*

Sensibilité et spécificité à *C. trachomatis*

Tableau 5a : Échantillons du test APTIMA COMBO 2 comparés au statut des patients infectés

Échantillon		État des symptômes	N	TP	FP[4]	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Homme	Écouvillon	Sympt.	676	190	15[a]	464	7	96,4 % (92,8–98,6)	96,9 % (94,9–98,2)
		Asympt.	388	70	5[b]	309	4	94,6 % (86,7–98,5)	98,4 % (96,3–99,5)
		Tous[1]	1065	260	20[c]	774	11	95,9 % (92,9–98,0)	97,5 % (96,1–98,5)
	Urine	Sympt.	694	199	8[d]	484	3	98,5 % (95,7–99,7)	98,4 % (96,8–99,3)
		Asympt.	400	77	4[e]	316	3	96,3 % (89,4–99,2)	98,8 % (96,8–99,7)
		Tous[1]	1095	276	12[f]	801	6	97,9 % (95,4–99,2)	98,5 % (97,4–99,2)
Femme	Écouvillon	Sympt.	819	133	22[g]	653	11	92,4 % (86,7–96,1)	96,7 % (95,1–97,9)
		Asympt.	569	61	6[h]	501	1	98,4 % (91,3–100)	98,8 % (97,4–99,6)
		Tous[2]	1389	195	28[i]	1154	12	94,2 % (90,1–97,0)	97,6 % (96,6–98,4)
	Urine	Sympt.	821	136	8[j]	668	9	93,8 % (88,5–97,1)	98,8 % (97,7–99,5)
		Asympt.	569	60	5[k]	502	2	96,8 % (88,8–99,6)	99,0 % (97,7–99,7)
		Tous[2]	1391	197	13[l]	1170	11	94,7 % (90,7–97,3)	98,9 % (98,1–99,4)
Total	Écouvillon	Sympt.	1495	323	37[m]	1117	18	94,7 % (91,8–96,8)	96,8 % (95,6–97,7)
		Asympt.	957	131	11[n]	810	5	96,3 % (91,6–98,8)	98,7 % (97,6–99,3)
		Tous[3]	2454	455	48[o]	1928	23	95,2 % (92,9–96,9)	97,6 % (96,8–98,2)
	Urine	Sympt.	1515	335	16[p]	1152	12	96,5 % (94,0–98,2)	98,6 % (97,8–99,2)
		Asympt.	969	137	9[q]	818	5	96,5 % (92,0–98,8)	98,9 % (97,9–99,5)
		Tous[3]	2486	473	25[r]	1971	17	96,5 % (94,5–98,0)	98,7 % (98,2–99,2)

TP = Vrai positif ; **FP** = Faux positif ; **TN** = Vrai négatif ; **FN** = Faux négatif.

[1] Comprend 1 sujet masculin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

[2] Comprend 1 sujet féminin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

[3] Comprend 1 sujet masculin et 1 sujet féminin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

[4] Les résultats du test TMA alternatif pour CT représentent le nbre de résultats positifs/le nbre d'échantillons testés : a: 11/14; b: 3/5; c: 14/19; d: 4/8; e: 0/4; f: 4/12; g: 18/22; h: 4/6; i: 22/28; j: 2/8; k: 1/5; l: 3/13, m: 29/36, n: 7/11, o: 36/47, p: 6/16, q: 1/9, et r : 7/25.

Tableau 5b : Échantillons vaginaux sur écouvillon du test APTIMA COMBO 2 comparés à l'état d'infection des patients

Échantillon		État des symptômes	N	TP	FP[1]	TN	FN	Sensibilité (95 % C.I.)	Spécificité (95 % C.I.)
Collecté par la patiente	Écouvillon vaginal	Asympt.	628	60	18[a]	549	1	98,4 % (91,2–100)	96,8 % (95,0–98,1)
Collecté par un clinicien	Écouvillon vaginal	Sympt.	809	111	25[b]	669	4	96,5 % (91,3–99,0)	96,4 % (94,7–97,7)
		Asympt.	636	59	16[c]	559	2	96,7 % (88,7–99,6)	97,2 % (95,5–98,4)
		Tous	1445	170	41[d]	1228	6	96,6 % (92,7–98,7)	96,8 % (95,6–97,7)

TP = Vrai positif ; **FP** = Faux positif ; **TN** = Vrai négatif ; **FN** = Faux négatif.

[1] Les résultats du test TMA d'amplification alternatif pour CT représentent le nbre de résultats positifs/le nbre d'échantillons testés : a: 15/18, b: 17/25, c: 15/16, et d : 32/41.

Tableau 5c : Comparaison des échantillons PreservCyt du test APTIMA COMBO 2 à l'état d'infection des patients

État des symptômes	Résultats AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Asympt.	Positif	58	1	0	6	96,7 % (88,5 - 99,6)	99,4 % (98,8 - 99,8)
	Négatif	2	1	12	1208		
	Total	60	2	12	1214		
Sympt.	Positif	29	0	0	5	96,7 % (82,8 - 99,9)	98,5 % (96,5 - 99,5)
	Négatif	1	3	4	317		
	Total	30	3	4	322		
Tous	Positif	87	1	0	11	96,7 % (90,6 - 99,3)	99,2 % (98,7 - 99,6)
	Négatif	3	4	16	1525		
	Total	90	5	16	1536		

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

C. trachomatis performance par site clinique

Tableau 6a : Échantillon analysé avec le test APTIMA COMBO 2 comparé à l'état d'infection du patient

Échantillon		Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (95 % C.I.)	Spécificité (95 % C.I.)	PPV (%)	NPV (%)
Homme	Écouvillon	1	157	35	6	115	1	22,9	97,2 % (85,5–99,9)	95,0 % (89,5–98,2)	85,4	99,1
		2	93	19	2	72	0	20,4	100 % (82,4–100)	97,3 % (90,6–99,7)	90,5	100
		3	248	76	5	165	2	31,5	97,4 % (91,0–99,7)	97,1 % (93,3–99,0)	93,8	98,8
		4	51	12	1	38	0	23,5	100 % (73,5–100)	97,4 % (86,5–99,9)	92,3	100
		5	138	24	0	113	1	18,1	96,0 % (79,6–99,9)	100 % (96,8–100)	100	99,1
		6	353	74	6	268	5	22,4	93,7 % (85,8–97,9)	97,8 % (95,3–99,2)	92,5	98,2
		7	25	20	0	3	2	88,0*	90,9 % (70,8–98,9)	100 % (29,2–100)	100	60,0
		TOUS	1065	260	20	774	11	25,4	95,9 % (92,9–98,0)	97,5 % (96,1–98,5)	92,9	98,6
	Urine	1	157	35	6	115	1	22,9	97,2 % (85,5–99,9)	95,0 % (89,5–98,2)	85,4	99,1
		2	96	22	1	73	0	22,9	100 % (84,6–100)	98,6 % (92,7–100)	95,7	100
		3	249	78	2	169	0	31,3	100 % (95,4–100)	100 % (95,8–99,9)	97,5	100
		4	51	12	0	39	0	23,5	100 % (73,5–100)	98,8 % (91,0–100)	100	100
		5	162	31	2	129	0	19,1	100 % (88,8–100)	98,5 % (94,6–99,8)	93,9	100
		6	353	74	1	273	5	22,4	93,7 % (85,8–97,9)	99,6 % (98,0–100)	98,7	98,2
		7	27	24	0	3	0	88,9*	100 % (85,8–100)	100 % (29,2–100)	100	100
		TOUS	1095	276	12	801	6	25,8	97,9 % (95,4–99,2)	98,5 % (97,4–99,2)	95,8	99,3
Femme	Écouvillon	1	150	34	4	110	2	24,0	94,4 % (81,3–99,3)	96,5 % (91,3–99,0)	89,5	98,2
		2	81	11	1	68	1	14,8	91,7 % (61,5–99,8)	98,6 % (92,2–100)	91,7	98,6
		3	184	51	13	114	6	31,0	89,5 % (78,5–96,0)	89,8 % (83,1–94,4)	79,7	95,0
		4	196	27	2	167	0	13,8	100 % (87,2–100)	98,8 % (95,8–99,9)	93,1	100
		5	370	27	1	341	1	7,6	96,4 % (81,7–99,9)	99,7 % (98,4–100)	96,4	99,7
		6	274	35	7	230	2	13,5	94,6 % (81,8–99,3)	97,0 % (94,0–98,8)	83,3	99,1
		7	134	10	0	124	0	7,5	100 % (69,2–100)	100 % (97,1–100)	100	100
		TOUS	1389	195	28	1154	12	14,9	94,2 % (90,1–97,0)	97,6 % (96,6–98,4)	87,4	99,0
	Urine	1	150	34	4	110	2	24,0	94,4 % (81,3–99,3)	96,5 % (91,3–99,0)	89,5	98,2
		2	81	12	1	68	0	14,8	100 % (73,5–100)	98,6 % (92,2–100)	92,3	100
		3	185	54	3	125	3	30,8	94,7 % (85,4–98,9)	97,7 % (93,3–99,5)	94,7	97,7
		4	196	24	2	167	3	13,8	88,9 % (70,8–97,6)	98,8 % (95,8–99,9)	92,3	98,2
		5	369	28	2	338	1	7,9	96,6 % (82,2–99,9)	99,4 % (97,9–99,9)	93,3	99,7
		6	276	35	1	238	2	13,4	94,6 % (81,8–99,3)	99,6 % (97,7–100)	97,2	99,2
		7	134	10	0	124	0	7,5	100 % (69,2–100)	100 % (97,1–100)	100	100
		TOUS	1391	197	13	1170	11	15,0	94,7 % (90,7–97,3)	98,9 % (98,1–99,4)	93,8	99,1

TP = Vrai positif ; **FP** = Faux positif ; **TN** = Vrai négatif ; **FN** = Faux négatif.

* Prévalence surestimée due au fait que la collecte initiale s'est limitée au dépistage des sujets symptomatiques.

Tableau 6b : Échantillons vaginaux sur écouvillon du test APTIMA COMBO 2 comparés à l'état d'infection des patients

Échantillon		Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)
Collecté par la patiente	Écouvillon vaginal	1	70	14	3	53	0	20,0	100 % (76,8–100)	94,6 % (85,1–98,9)	82,4	100
		2	45	13	3	29	0	28,9	100 % (75,3–100)	90,6 % (75,0–98,0)	81,3	100
		3	45	4	2	39	0	8,9	100 % (39,8–100)	95,1 % (83,5–99,4)	66,7	100
		4	152	6	3	142	1	4,6	85,7 % (42,1–99,6)	99,7 % (94,1–99,6)	66,7	99,3
		5	130	7	3	120	0	5,4	100 % (59,0–100)	97,6 % (93,0–99,5)	70,0	100
		6	75	8	2	65	0	10,7	100 % (63,1–100)	97,0 % (89,6–99,6)	80,0	100
		7	68	5	1	62	0	7,4	100 % (47,8–100)	98,4 % (91,5–100)	83,3	100
		8	43	3	1	39	0	7,0	100 % (29,2–100)	97,5 % (86,8–99,9)	75,0	100
		TOUS	628	60	18	549	1	9,7	98,4 % (91,2–100)	96,8 % (95,0–98,1)	76,9	99,8
Collecté par un clinicien	Écouvillon vaginal	1	227	34	9	182	2	15,9	94,4 % (81,3–99,3)	95,3 % (91,2–97,8)	79,1	98,9
		2	196	50	5	139	2	26,5	96,2 % (86,8–99,5)	96,5 % (92,1–98,9)	90,9	98,6
		3	113	9	3	101	0	8,0	100 % (66,4–100)	97,1 % (91,8–99,4)	75,0	100
		4	262	19	11	231	1	7,6	95,0 % (75,1–99,9)	95,5 % (92,0–97,7)	63,3	99,6
		5	199	13	2	184	0	6,5	100 % (75,3–100)	98,9 % (96,2–99,9)	86,7	100
		6	296	33	9	254	0	11,1	100 % (89,4–100)	96,6 % (93,6–98,4)	78,6	100
		7	102	9	1	91	1	9,8	90,0 % (55,5–99,7)	98,9 % (94,1–100)	90,0	98,9
		8	50	3	1	46	0	6,0	100 % (29,2–100)	97,9 % (88,7–99,9)	75,0	100
		TOUS	1445	170	41	1228	6	12,2	96,6 % (92,7–98,7)	96,8 % (95,6–97,7)	80,6	99,5

TP = Vrai positif ; **FP** = Faux positif ; **TN** = Vrai négatif ; **FN** = Faux négatif.

Tableau 6c : Comparaison des échantillons PreservCyt du test APTIMA COMBO 2 à l'état d'infection des patients

Site	Résultats AC2/CT PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)
1	Positif	14	0	0	2	14,0	100 % (76,8 - 100)	97,7 % (91,9 - 99,7)	87,5	100
	Négatif	0	0	1	83					
	Total	14	0	1	85					
2	Positif	4	0	0	0	3,2	100 % (39,8 - 100)	100 % (97,0 - 100)	100	100
	Négatif	0	0	2	118					
	Total	4	0	2	118					
3	Positif	29	0	0	2	6,5	93,5 % (78,6 - 99,2)	99,5 % (98,4 - 99,9)	93,5	99,5
	Négatif	2	0	2	440					
	Total	31	0	2	442					
4	Positif	8	1	0	4	2,8	100 % (63,1 - 100)	98,2 % (95,9 - 99,4)	61,5	100
	Négatif	0	2	1	271					
	Total	8	3	1	275					
5	Positif	13	0	0	2	4,7	92,9 % (66,1 - 99,8)	99,3 % (97,5 - 99,9)	86,7	99,6
	Négatif	1	1	4	276					
	Total	14	1	4	278					
6	Positif	19	0	0	1	5,2	100 % (82,4 - 100)	99,7 % (98,4 - 100)	95,0	100
	Négatif	0	1	6	337					
	Total	19	1	6	338					
Tous	Positif	87	1	0	11	5,5	96,7 % (90,6 - 99,3)	99,2 % (98,7 - 99,6)	87,9	99,8
	Négatif	3	4	16	1525					
	Total	90	5	16	1536					

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test ACT.

Chlamydia trachomatis analyse de l'état d'infection des patientes de sexe féminin

Tableau 7a : Écouvillon endocervical et échantillon d'urine

L'état d'infection du patient	NAAT 1		NAAT 2		Test APTIMA COMBO 2		État des symptômes	
	FU	FS	FU	FS	FU	FS	Sympt.	Asympt.
Infecté	S.O.	S.O.	+	+	+	+	1	0
Infecté	S.O.	+	S.O.	+	+	+	1	0
Infecté	S.O.	+	+	+	-	+	0	1
Infecté	-	+	S.O.	+	-	+	1	0
Infecté	-	+	-	+	-	+	4	0
Infecté	-	+	-	+	+	+	6	1
Infecté	-	+	+	+	-	+	1	0
Infecté	-	+	+	+	+	+	7	3
Infecté	+	S.O.	+	+	+	+	1	0
Infecté	+	-	S.O.	+	+	-	1	0
Infecté	+	-	+	-	-	-	1	0
Infecté	+	-	+	-	+	-	7	1
Infecté	+	-	+	-	+	+	2	1
Infecté	+	-	+	+	+	-	1	0
Infecté	+	-	+	+	+	+	3	3
Infecté	+	+	S.O.	+	+	+	6	2
Infecté	+	+	-	S.O.	+	+	1	0
Infecté	+	+	-	+	+	+	7	3
Infecté	+	+	+	S.O.	+	+	1	0
Infecté	+	+	+	-	+	+	2	2
Infecté	+	+	+	+	-	-	1	0
Infecté	+	+	+	+	-	+	1	1
Infecté	+	+	+	+	+	S.O.	1	0
Infecté	+	+	+	+	+	+	88	44
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	-	1	1
Non infecté	-	-	-	-	-	S.O.	2	1
Non infecté	-	-	-	-	-	-	648	497
Non infecté	-	-	-	-	-	+	18	4
Non infecté	-	-	-	-	+	-	4	3
Non infecté	-	-	-	-	+	+	4	2
Total							822	570

FU = Urine féminine ; **FS** = Écouvillon endocervical féminin ;
« S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test.

Tableau 7b : Échantillons vaginaux collectés par la patiente et par un clinicien à l'aide d'un écouvillon

L'état d'infection du patient	NAAT 1		NAAT 2 (APTIMA COMBO 2)		Test APTIMA COMBO 2		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Symp.	Asymp.	
Infecté	+	+	+	+	+	+	79	43	122
Infecté	+	+	+	+	+	-	0	1	1
Infecté	+	+	+	+	-	+	1	0	1
Infecté	+	+	+	+	S.O.	-	1	0	1
Infecté	+	-	+	+	+	+	8	5	13
Infecté	+	-	+	+	-	-	1	0	1
Infecté	+	-	+	+	S.O.	+	1	0	1
Infecté	+	=	+	+	+	+	1	0	1
Infecté	-	+	+	+	+	+	8	3	11
Infecté	-	+	+	+	-	-	1	0	1
Infecté	-	-	+	+	+	+	1	2	3
Infecté	-	S.O.	+	+	+	+	1	0	1
Infecté	+	+	+	-	+	+	5	3	8
Infecté	+	-	+	-	+	+	5	0	5
Infecté	+	-	+	-	-	+	2	0	2
Infecté	+	+	-	+	+	+	0	1	1
Infecté	-	+	-	+	+	+	1	4	5
Infecté	-	+	-	+	+	-	1	0	1
Infecté	-	+	-	+	-	-	0	1	1
Non infecté	-	-	+	-	+	+	0	4	4
Non infecté	-	-	+	-	+	-	2	1	3
Non infecté	-	-	+	-	-	+	2	1	3
Non infecté	-	-	+	-	-	-	6	4	10
Non infecté	-	-	+	-	S.O.	+	1	0	1
Non infecté	-	-	+	-	S.O.	-	1	0	1
Non infecté	-	-	-	+	+	+	4	2	6
Non infecté	-	-	-	+	+	-	1	0	1
Non infecté	-	-	-	+	-	-	0	2	2
Non infecté	+	-	-	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	+	-	-	-	-	1	2	3
Non infecté	-	-	-	-	+	+	3	2	5
Non infecté	-	-	-	-	+	-	2	7	9
Non infecté	-	-	-	-	-	+	12	3	15
Non infecté	-	-	-	-	-	-	623	516	1139
Non infecté	-	-	-	-	-	S.O.	0	2	2
Non infecté	-	-	-	-	-	=	1	0	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	+	0	1	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	-	11	8	19
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	S.O.	1	0	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	=	0	1	1
Non infecté	-	-	-	-	=	+	0	1	1
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	-	2	2	4

Tableau 7b : Échantillons vaginaux collectés par la patiente et par un clinicien à l'aide d'un écouvillon (suite)

L'état d'infection du patient	NAAT 1		NAAT 2 (APTIMA COMBO 2)		Test APTIMA COMBO 2		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Symp.	Asymp.	
Non infecté	-	S.O.	-	-	S.O.	-	0	1	1
Non infecté	-	=	-	-	-	-	12	9	21
Non infecté	-	=	-	-	-	S.O.	0	1	1
Non infecté	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	0	1	1
Non infecté	-	-	S.O.	-	-	-	5	4	9
Non infecté	-	-	=	-	-	+	1	0	1
Non infecté	-	-	=	-	-	-	1	0	1
Total							811	640	1451

FS = Écouvillon endocervical féminin ; **FU =** Urine féminine ; **PVS =** Écouvillon vaginal collecté par une patiente asymptomatique ; **CVS =** Écouvillon vaginal collecté par un clinicien. « S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole égal (=) correspond à des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse.

Tableau 7c : Résultats pour l'état d'infection des patients par C. trachomatis provenant de l'étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

L'état d'infection du patient	Résultat pour échantillon endocervical sur écouvillon		État des symptômes	
	AC2	ACT	Symp.	Asymp.
Infecté	+	+	30	60
Non infecté	-	+	4	12
Non infecté	+	-	3	2
Non infecté	-	-	322	1214
Total			359	1288

C. trachomatis analyse de l'état d'infection des patients de sexe masculin

Tableau 8 : Analyse des échantillons urétraux sur écouvillon et d'urine pour déterminer l'état d'infection par C. trachomatis des patients de sexe masculin

L'état d'infection du patient	NAAT 1		NAAT 2	Test APTIMA COMBO 2		État des symptômes	
	MU	MS	MU	MU	MS	Sympt.	Asympt.
Infecté	S.O.	+	+	+	+	2	0
Infecté	-	+	+	+	+	10	4
Infecté	+	S.O.	+	+	S.O.	4	6
Infecté	+	S.O.	+	+	-	2	0
Infecté	+	S.O.	+	+	+	21	1
Infecté	+	-	+	+	-	3	3
Infecté	+	-	+	+	+	4	3
Infecté	+	+	S.O.	-	+	1	0
Infecté	+	+	S.O.	+	+	8	2
Infecté	+	+	-	+	+	12	4
Infecté	+	+	+	-	-	1	0
Infecté	+	+	+	-	+	1	3
Infecté	+	+	+	+	S.O.	1	0
Infecté	+	+	+	+	-	1	1
Infecté	+	+	+	+	+	131	53
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	0	2
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	13	8
Non infecté	-	-	-	-	-	461	303
Non infecté	-	-	-	-	+	10	5
Non infecté	-	-	-	+	-	3	4
Non infecté	-	-	-	+	+	5	0
Total						694	402

MU = Urine homme ; **MS** = Écouvillon urétral masculin ;
« S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test.

Neisseria gonorrhoeae tableaux de performance

N. gonorrhoeae sensibilité et spécificité

Tableau 9a : Échantillons du test APTIMA COMBO 2 comparés au statut des patients infectés

Échantillon		État des symptômes	N	TP	FP[4]	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Homme	Écouvillon	Sympt.	724	304	5[a]	412	3	99,0 % (97,2–99,8)	98,8 % (97,2–99,6)
		Asympt.	378	15	12[b]	351	0	100 % (78,2–100)	96,7 % (94,3–98,3)
		Tous[1]	1103	319	17[c]	764	3	99,1 % (97,3–99,8)	97,8 % (96,5–98,7)
	Urine	Sympt.	750	311	1[d]	433	5	98,4 % (96,3–99,5)	99,8 % (98,7–100)
		Asympt.	383	13	2[e]	368	0	100 % (75,3–100)	99,5 % (98,1–99,9)
		Tous[1]	1134	324	3[f]	802	5	98,5 % (96,5–99,5)	99,6 % (98,9–99,9)
Femme	Écouvillon	Sympt.	881	94	15[g]	772	0	100 % (96,2–100)	98,1 % (96,9–98,9)
		Asympt.	596	31	2[h]	562	1	96,9 % (83,8–99,9)	99,6 % (98,7–100)
		Tous[2]	1479	126	17[i]	1335	1	99,2 % (95,7–100)	98,7 % (98,0–99,3)
	Urine	Sympt.	883	87	7[j]	782	7	92,6 % (85,3–97,0)	99,1 % (98,2–99,6)
		Asympt.	599	28	3[k]	564	4	87,5 % (71,0–96,5)	99,5 % (98,5–99,9)
		Tous[2]	1484	116	10[l]	1347	11	91,3 % (85,0–95,6)	99,3 % (98,6–99,6)
Total	Écouvillon	Sympt.	1605	398	20[m]	1184	3	99,3 % (97,8–99,8)	98,3 % (97,4–99,0)
		Asympt.	974	46	14[n]	913	1	97,9 % (88,7–99,9)	98,5 % (97,5–99,2)
		Tous[3]	2582	445	34[o]	2099	4	99,1 % (97,7–99,8)	98,4 % (97,8–98,9)
	Urine	Sympt.	1633	398	8[p]	1215	12	97,1 % (94,9–98,5)	99,3 % (98,7–99,7)
		Asympt.	982	41	5[q]	932	4	91,1 % (78,8–97,5)	99,5 % (98,8–99,8)
		Tous[3]	2618	440	13[r]	2149	16	96,5 % (94,4–98,0)	99,4 % (99,0–99,7)

TP = Vrai positif ; **FP** = Faux positif ; **TN** = Vrai négatif ; **FN** = Faux négatif.

[1]Comprend 1 sujet masculin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

[2] Comprend 1 sujet féminin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

[3] Comprend 1 sujet masculin et 1 sujet féminin chez qui aucun symptôme n'a été signalé.

[4] Les résultats du test TMA alternatif pour GC représentent le nbre de résultats positifs/le nbre d'échantillons testés : a: 5/5, b: 12/12, c: 17/17, d: 0/1, e: 2/2, f: 2/3, g: 13/15 ; h : 2/2 ; i : 15/17, j: 4/7, k: 0/2, l: 4/9, m: 18/20, n: 14/14, o: 32/34, p: 4/8, q : 2/4, et r : 6/12.

Tableau 9b : Échantillons vaginaux sur écouvillon du test APTIMA COMBO 2 comparés à l'état d'infection des patients

Échantillon		État des symptômes	N	TP	FP[1]	TN	FN	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Collecté par la patiente	Écouvillon vaginal	Asympt.	629	21	3[a]	605	0	100 % (83,9–100)	99,5 % (98,6–99,9)
Collecté par un clinicien	Écouvillon vaginal	Sympt.	807	51	7[b]	747	2	96,2 % (87,0–99,5)	99,1 % (98,1–99,6)
		Asympt.	637	21	4[c]	611	1	95,5 % (77,2–99,9)	99,3 % (98,3–99,8)
		Tous	1444	72	11[d]	1358	3	96,0 % (88,8–99,2)	99,2 % (98,6–99,6)

TP = Vrai positif ; **FP** = Faux positif ; **TN** = Vrai négatif ; **FN** = Faux négatif.

[1]Les résultats du test TMA d'amplification alternatif pour GC représentent le nbre de résultats positifs/le nbre d'échantillons testés : a: 3/3, b: 6/7, c: 3/4, et d : 9/11.

Tableau 9c : Comparaison des échantillons PreservCyt du test APTIMA COMBO 2 à l'état d'infection des patients

État des symptômes	Résultats AC2/GC PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)
Asympt.	Positif	5	0	1[1]	3	83,3 % (35,9 - 99,6)	99,7 % (99,2 - 99,9)
	Négatif	1	0	5	1273		
	Total	6	0	6	1276		
Sympt.	Positif	7	0	0	0	100 % (59,0 - 100)	100 % (99,0 - 100)
	Négatif	0	0	0	352		
	Total	7	0	0	352		
Tous	Positif	12	0	1	3	92,3 % (64,0 - 99,8)	99,8 % (99,4 - 99,9)
	Négatif	1	0	5	1625		
	Total	13	0	6	1628		

[1] Un échantillon a donné un résultat discordant : résultat équivoque d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2/Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC APTIMA.

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

Neisseria gonorrhoeae performance par site clinique

Tableau 10a : Échantillons du test APTIMA COMBO 2 comparés au statut des patients infectés

Échantillon		Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)
Homme	Écouvillon	1	159	56	1	101	1	35,8	98,2 % (90,6–100)	99,0 % (94,7–100)	98,2	99,0
		2	97	13	0	84	0	13,4	100 % (75,3–100)	100 % (95,7–100)	100	100
		3	264	71	6	187	0	26,9	100 % (94,9–100)	96,9 % (93,4–98,9)	92,2	100
		4	53	20	0	33	0	37,7	100 % (83,2–100)	100 % (89,4–100)	100	100
		5	139	12	0	127	0	8,6	100 % (73,5–100)	100 % (97,1–100)	100	100
		6	336	94	10	231	1	28,3	98,9 % (94,3–100)	95,9 % (92,5–98,0)	90,4	99,6
		7	55	53	0	1	1	98,2*	98,1 % (90,1–100)	100 % (2,5–100)	100	50,0
		TOUS	1103	319	17	764	3	29,2	99,1 % (97,3–99,8)	97,8 % (96,5–98,7)	94,9	99,6
	Urine	1	161	57	0	103	1	36,0	98,3 % (90,8–100)	100 % (96,5–100)	100	99,0
		2	104	19	0	85	0	18,3	100 % (82,4–100)	100 % (95,8–100)	100	100
		3	265	71	2	192	0	26,8	100 % (94,9–100)	99,0 % (96,3–99,9)	97,3	100
		4	53	20	0	33	0	37,7	100 % (83,2–100)	100 % (89,4–100)	100	100
		5	160	14	0	146	0	8,8	100 % (76,8–100)	100 % (97,5–100)	100	100
		6	335	89	1	241	4	27,8	95,7 % (89,4–98,8)	99,6 % (97,7–100)	98,9	98,4
		7	56	54	0	2	0	96,4*	100 % (93,4–100)	100 % (15,8–100)	100	100
		TOUS	1134	324	3	802	5	29,0	98,5 % (96,5–99,5)	99,6 % (98,9–99,9)	99,1	99,4
Femme	Écouvillon	1	196	30	2	164	0	15,3	100 %(88,4–100)	98,8 % (95,7–99,9)	93,8	100
		2	83	9	1	72	1	12,0	90,0 % (55,5–99,7)	98,6 % (92,6–100)	90,0	98,6
		3	191	31	2	158	0	16,2	100 % (88,8–100)	98,8 % (95,6–99,8)	93,9	100
		4	215	7	0	208	0	3,3	100 % (59,0–100)	100 % (98,2–100)	100	100
		5	382	8	1	373	0	2,1	100 % (63,1–100)	99,7 % (98,5–100)	88,9	100
		6	278	36	8	234	0	12,9	100 % (90,3–100)	96,7 % (93,6–98,6)	81,8	100
		7	134	5	3	126	0	3,7	100 % (47,8–100)	97,7 % (93,4–99,5)	62,5	100
		TOUS	1479	126	17	1335	1	8,6	99,2 % (95,7–100)	98,7 % (98,0–99,3)	88,1	99,9
	Urine	1	196	24	2	164	6	15,3	80,0 % (61,4–92,3)	98,8 % (95,7–99,9)	92,3	96,5
		2	83	9	1	72	1	12,0	90,0 % (55,5–99,7)	98,6 % (92,6–100)	90,0	98,6
		3	191	30	2	158	1	16,2	96,8 % (83,3–99,9)	98,8 % (95,6–99,8)	93,8	99,4
		4	215	5	2	206	2	3,3	71,4 % (29,0–96,3)	99,0 % (96,6–99,9)	71,4	99,0
		5	383	8	0	375	0	2,1	100 % (63,1–100)	100 % (99,0–100)	100	100
		6	282	35	2	244	1	12,8	97,2 % (85,5–99,9)	99,2 % (97,1–99,9)	94,6	99,6
		7	134	5	1	128	0	3,7	100 % (47,8–100)	99,2 % (95,8–100)	83,3	100
		TOUS	1484	116	10	1347	11	8,6	91,3 % (85,0–95,6)	99,3 % (98,6–99,6)	92,1	99,2

TP = Vrai positif ; **FP** = Faux positif ; **TN** = Vrai négatif ; **FN** = Faux négatif.

* Prévalence surestimée due au fait que la collecte initiale s'est limitée au dépistage des sujets symptomatiques.

Tableau 10b : Échantillons vaginaux sur écouvillon du test APTIMA COMBO 2 comparés à l'état d'infection des patients l'état d'infection du patient

Échantillon		Site	N	TP	FP	TN	FN	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)
Collecté par la patiente	Écouvillon vaginal	1	70	5	1	65	0	7,1	100 % (47,8 - 100)	98,5 (91,7 - 100)	83,3	100
		2	46	7	0	39	0	15,2	100 % (59,0 - 100)	100 % (91,0 - 100)	100	100
		3	45	2	0	43	0	4,4	100 % (15,8 - 100)	100 % (91,8 - 100)	100	100
		4	152	1	0	151	0	0,7	100 % (2,5 - 100)	100 % (97,6 - 100)	100	100
		5	130	1	0	129	0	0,8	100 % (2,5 - 100)	100 % (97,2 - 100)	100	100
		6	75	5	2	68	0	6,7	100 % (47,8 - 100)	97,1 (90,1 - 99,7)	71,4	100
		7	68	0	0	68	0	0,0	S.O.	100 % (94,7 - 100)	S.O.	100
		8	43	0	0	43	0	0,0	S.O.	100 % (91,8 - 100)	S.O.	100
		TOUS	629	21	3	605	0	3,3	100 % (83,9 - 100)	99,5 (98,6 - 99,9)	87,5	100
Collecté par un clinicien	Écouvillon vaginal	1	227	12	3	212	0	5,3	100 % (73,5 - 100)	98,6 % (96,0 - 99,7)	80,0	100
		2	196	31	2	163	0	15,8	100 % (88,8 - 100)	98,8 % (95,7 - 99,9)	93,9	100
		3	113	3	0	109	1	3,5	75,0 % (19,4 - 99,4)	100 % (96,7 - 100)	100	99,1
		4	262	5	2	255	0	1,9	100 % (47,8 - 100)	99,2 % (97,2 - 99,9)	71,4	100
		5	198	2	0	196	0	1,0	100 % (15,8 - 100)	100 % (98,1 - 100)	100	100
		6	296	18	4	272	2	6,8	90,0 % (68,3 - 98,8)	98,6 % (96,3 - 99,6)	81,8	99,3
		7	102	0	0	102	0	0,0	S.O.	100 % (96,4 - 100)	S.O.	100
		8	50	1	0	49	0	2,0	100 % (2,5 - 100)	100 % (92,7 - 100)	100	100
		TOUS	1444	72	11	1358	3	5,2	96,0 % (88,8 - 99,2)	99,2 % (98,6 - 99,6)	86,7	99,8

TP = Vrai positif ; **FP** = Faux positif ; **TN** = Vrai négatif ; **FN** = Faux négatif.

Tableau 10c : Comparaison des échantillons PreservCyt du test APTIMA COMBO 2 à l'état d'infection des patients

Site	Résultats AC2/GC PreservCyt	+/+	+/-	-/+	-/-	Prév. (%)	Sensibilité (IC à 95 %)	Spécificité (IC à 95 %)	PPV (%)	NPV (%)
1	Positif	5	0	0	0	5,0	100 % (47,8 - 100)	100 % (96,2 - 100)	100	100
	Négatif	0	0	0	95					
	Total	5	0	0	95					
2	Positif	1	0	0	0	0,8	100 % (2,5 - 100)	100 % (97,0 - 100)	100	100
	Négatif	0	0	0	123					
	Total	1	0	0	123					
3	Positif	4	0	0	0	1,1	80,0 % (28,4 - 99,5)	100 % (99,2 - 100)	100	99,8
	Négatif	1	0	0	470					
	Total	5	0	0	470					
4	Positif	1	0	0	0	0,3	100 % (2,5 - 100)	100 % (98,7 - 100)	100	100
	Négatif	0	0	3	283					
	Total	1	0	3	283					
5	Positif	0	0	0	3	0,0	S.O.	99,0 % (97,1 - 99,8)	0,0	100
	Négatif	0	0	0	294					
	Total	0	0	0	297					
6	Positif	1	0	1[1]	0	0,3	100 % (2,5 - 100)	99,7 % (98,5 - 100)	50,0	100
	Négatif	0	0	2	360					
	Total	1	0	3	360					
Tous	Positif	12	0	1	3	0,8	92,3 % (64,0 - 99,8)	99,8 % (99,4 - 99,9)	75,0	99,9
	Négatif	1	0	5	1625					
	Total	13	0	6	1628					

[1] Un échantillon a donné un résultat discordant : résultat équivoque d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test APTIMA COMBO 2/Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test GC APTIMA.

+/+ = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

+/- = Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

-/+ = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat positif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

-/- = Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AC2 / Résultat négatif d'échantillon endocervical sur écouvillon avec le test AGC.

Neisseria gonorrhoeae analyse de l'état d'infection des patients de sexe féminin

Tableau 11a : Écouvillon endocervical et échantillon d'urine

L'état d'infection du patient	NAAT		Culture	Test APTIMA COMBO 2		État des symptômes	
	FU	FS	FS	FU	FS	Symp.	Asymp.
Infecté	S.O.	+	+	+	+	1	1
Infecté	-	-	+	-	-	0	1
Infecté	-	+	+	-	+	5	2
Infecté	-	+	+	+	+	9	2
Infecté	+	S.O.	+	+	+	1	0
Infecté	+	-	+	+	+	3	1
Infecté	+	+	S.O.	+	+	0	1
Infecté	+	+	-	+	+	11	2
Infecté	+	+	+	-	+	2	1
Infecté	+	+	+	+	+	62	21
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	2	3
Non infecté	-	-	-	-	-	768	559
Non infecté	-	-	-	-	+	12	2
Non infecté	-	-	-	+	-	4	3
Non infecté	-	-	-	+	+	3	0
Total						883	599

FU = Urine féminine ; **FS** = Écouvillon endocervical féminin

« S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test.

Tableau 11b : Analyse des échantillons vaginaux collectés par la patiente et par un clinicien à l'aide d'un écouvillon

L'état d'infection du patient	NAAT 1		NAAT 2		Test APTIMA COMBO 2		État des symptômes		Total
	FS	FU	FS	FU	PVS	CVS	Sympt.	Asympt.	
Infecté	+	+	+	+	+	+	44	15	59
Infecté	+	+	+	+	+	-	1	0	1
Infecté	+	+	+	+	S.O.	+	0	1	1
Infecté	+	-	+	+	+	+	2	2	4
Infecté	+	S.O.	+	+	+	+	1	0	1
Infecté	-	+	+	+	+	+	1	1	2
Infecté	-	-	+	+	+	+	1	1	2
Infecté	+	+	+	-	+	+	1	0	1
Infecté	+	-	+	-	+	+	1	1	2
Infecté	+	-	+	-	+	-	1	0	1
Infecté	+	+	-	+	+	+	1	0	1
Infecté	-	+	-	+	+	+	0	1	1
Infecté	-	+	-	+	+	-	0	1	1
Infecté	+	+	-	-	-	+	1	0	1
Non infecté	-	-	+	-	-	-	5	1	6
Non infecté	-	-	-	+	-	-	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	+	+	1	0	1
Non infecté	+	-	-	-	-	-	5	2	7
Non infecté	-	+	-	-	+	+	0	1	1
Non infecté	-	+	-	-	-	-	2	1	3
Non infecté	-	-	-	-	+	+	2	0	2
Non infecté	-	-	-	-	+	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	-	-	+	2	2	4
Non infecté	-	-	-	-	-	-	698	577	1275
Non infecté	-	-	-	-	-	S.O.	0	2	2
Non infecté	-	-	-	-	-	=	2	0	2
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	-	15	9	24
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	S.O.	1	0	1
Non infecté	-	S.O.	-	-	-	-	2	2	4
Non infecté	-	S.O.	-	-	S.O.	-	0	1	1
Non infecté	-	=	-	-	-	-	11	10	21
Non infecté	-	=	-	-	-	S.O.	0	1	1
Non infecté	=	-	-	-	-	-	1	1	2
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	-	0	1	1
Non infecté	-	-	S.O.	-	-	-	5	4	9
Non infecté	-	-	=	-	-	-	1	1	2
Total							810	640	1450

FS = Écouvillon endocervical féminin ; **FU** = Urine féminine ; **PVS** = Écouvillon vaginal collecté par une patiente asymptomatique ; **CVS** = Écouvillon vaginal collecté par un clinicien ; « S.O. » représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour un test. Le symbole égal (=) correspond à des résultats équivoques ou indéterminés après réanalyse.

N. gonorrhoeae analyse de l'état d'infection des patients de sexe féminin

Tableau 11c : Résultats pour l'état d'infection des patients par N. gonorrhoeae provenant de l'étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

L'état d'infection du patient	Résultat pour échantillon endocervical sur écouvillon		État des symptômes	
	AC2	AGC	Symp.	Asymp.
Infecté	+	+	7	6
Non infecté	=	+	0	1
Non infecté	-	+	0	5
Non infecté	-	-	352	1276
Total			359	1288

N. gonorrhoeae analyse de l'état d'infection des patients de sexe masculin

Tableau 12 : Écouvillon urétral et échantillon d'urine

L'état d'infection du patient	NAAT 1		Culture	Test APTIMA COMBO 2		État des symptômes	
	MU	MS	MS	MU	MS	Symp.	Asymp.
Infecté	S.O.	+	+	+	+	1	0
Infecté	-	S.O.	+	S.O.	+	0	1
Infecté	-	S.O.	+	+	+	1	0
Infecté	-	-	+	-	-	1	0
Infecté	-	+	+	+	+	4	1
Infecté	+	S.O.	+	S.O.	+	0	1
Infecté	+	S.O.	+	+	S.O.	8	0
Infecté	+	S.O.	+	+	-	1	0
Infecté	+	S.O.	+	+	+	50	1
Infecté	+	-	+	+	+	4	1
Infecté	+	+	S.O.	+	+	1	0
Infecté	+	+	-	+	+	11	1
Infecté	+	+	+	-	-	1	0
Infecté	+	+	+	-	+	3	0
Infecté	+	+	+	+	S.O.	1	0
Infecté	+	+	+	+	+	229	9
Non infecté	-	-	-	S.O.	-	0	1
Non infecté	-	-	-	S.O.	+	0	1
Non infecté	-	-	-	-	S.O.	17	9
Non infecté	-	-	-	-	-	411	349
Non infecté	-	-	-	-	+	5	10
Non infecté	-	-	-	+	-	1	1
Non infecté	-	-	-	+	+	0	1
Total						750	387

MU = Urine homme ; **MS** = Écouvillon urétral masculin ; S.O. = Échantillon non obtenu ou non disponible pour un test.

Distribution des RLU des contrôles APTIMA

La distribution des RLU pour le contrôle positif GC / contrôle négatif CT APTIMA et le contrôle positif CT / contrôle négatif GC APTIMA pour toutes les séries de test APTIMA COMBO 2 effectuées lors des études d'échantillons cliniques est présentée dans le tableau 13.

Tableau 13 : Distribution du total de RLU des contrôles de test APTIMA COMBO 2

Contrôle	Statistiques	Total de RLU (x1000)		
		Étude clinique des échantillons endocervicaux et urétraux mâles sur écouvillon et d'urine	Étude clinique des échantillons vaginaux sur écouvillon	Étude clinique des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt
Contrôle positif CT / contrôle négatif GC	Maximum	1572	1996	1747
	75ème centile	1160	1279	1264
	Médiane	1063	1135	1165
	25ème centile	996	933	1024
	Minimum	274	174	494
Contrôle positif GC / contrôle négatif CT	Maximum	1359	1420	1438
	75ème centile	1202	1255	1288
	Médiane	1093	1169	1201
	25ème centile	989	1084	1099
	Minimum	167	249	166

Étude de précision

Des tests de précision ont été effectués sur trois sites pour obtenir les mesures de répétabilité et de reproductibilité. Des études de précision ont été effectuées dans le cadre de l'étude clinique sur les échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux mâles sur écouvillon et d'urine ainsi que dans celle portant sur les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Lors de l'étude précédente, chaque site avait reçu trois panels identiques de 13 échantillons contenant entre 0 et 500 fg de CT rRNA, de 0 à 25 000 fg de GC rRNA, ou des combinaisons de CT et GC rRNA. Les tests ont été effectués pendant trois jours en utilisant un lot de kit différent chaque jour. Les statistiques descriptives de l'ensemble des RLU, de l'intra-cycle, de l'inter-cycle et l'inter-site sont résumées dans le tableau 14a.

Pour l'étude de précision suivante, la reproductibilité a été établie avec un panel de 12 membres généré en enrichissant la solution PreservCyt de 0 à 2000 fg/test de CT et de 0 à 5000 fg/test de GC rRNA, et en aliquotant 1,0 mL dans le tube de prélèvement du kit de transfert d'échantillon APTIMA. Deux (2) opérateurs sur chacun des trois sites ont effectué une série par jour pendant trois jours, soit un total de trois séries valides par opérateur. Les tests ont été effectués en utilisant un lot de kit de test. Les résultats de cette étude de précision sont résumés dans le tableau 14b.

Dans les deux études, la reproductibilité a été établie en enrichissant le milieu de transport (STM, solution PreservCyt) avec rRNA. La reproductibilité lors des tests d'échantillons collectés à l'aide d'un écouvillon, d'urine, ou de frottis en milieu liquide PreservCyt contenant l'organisme cible n'a pas été déterminée.

Tableau 14a : Milieu de transport des écouvillons

Membre du panel		N	RLU moyenne (x1000)	Intra-série		D'une série à l'autre		D'un site à l'autre	
				SD (RLU)	CV (%)	SD (RLU)	CV (%)	SD (RLU)	CV (%)
Elevée	Ecouvillon CT	54	1055	76 588	7,3	83 711	7,9	150 332	14,2
	Double écouvillon*	54	2338	93 449	4,0	90 317	3,9	142 898	6,1
	Double urine*	54	2281	91 487	4,0	106 715	4,7	152 747	6,7
	Ecouvillon GC	54	1265	30 561	2,4	55 642	4,4	34 413	2,7
Moy.	Ecouvillon CT	54	1001	69 831	7,0	77 701	7,8	159 774	16,0
	Double écouvillon*	54	2241	152 377	6,8	58 353	2,6	139 983	6,2
	Ecouvillon GC	54	1249	35 142	2,8	60 638	4,9	46 364	3,7
Faible	Ecouvillon CT	54	1013	61 795	6,1	90 906	9,0	131 207	13,0
	Double écouvillon*	54	2085	286 034	13,7	161 764	7,8	58 837	2,8
	Double urine*	54	2201	95 705	4,3	118 760	5,4	106 802	4,9
	Ecouvillon GC	54	1177	42 478	3,6	69 821	5,9	29 836	2,5
Négatif	Écouvillon	54	7	1301	18,3	2311	32,5	1901	26,8
	Urine	54	7	861	12,0	2299	32,1	1994	27,9

* Les membres du panel doublement positifs contenaient CT et GC rRNA.

Tableau 14b : Solution PreservCyt

Concentration (fg/test)		N	Concordance	RLU moyenne (x1000)	Intra-série		D'une série à l'autre		D'un site à l'autre		D'un opérateur à l'autre	
CT	GC				SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
0	0	162	97,5 %	9,7	31,6	S.O.	3,4	S.O.	6,4	S.O.	4,7	S.O.
0	5000	54	96,3 %	1296	146	11,3	54,8	4,2	0,0	0,0	0,0	0,0
2000	0	54	100 %	1140	54,1	4,7	79,8	7,0	101	8,9	2,4	0,2
2000	5000	54	100 %	2345	79,6	3,4	78,0	3,3	94,7	4,0	37,9	1,6
0	250	54	100 %	953	114	12,0	0,0	0,0	161	16,9	90,7	9,5
5	0	54	100 %	971	58,3	6,0	71,7	7,4	22,8	2,4	85,0	8,8
1000	2500	54	100 %	2294	114	5,0	88,9	3,9	153	6,7	0,0	0,0
100	250	54	98,1 %	1911	139	7,3	130	6,8	348	18,2	39,7	2,1
5	5000	54	100 %	2136	113	5,3	130	6,1	98,8	4,6	166	7,8
2000	250	54	96,3 %	2044	138	6,7	169	8,3	360	17,6	26,9	1,3

RLU = Unité relative de lumière ; **SD** = Écart type; **CV** = Coefficient de variation ; S.O. représente un échantillon non obtenu ou non disponible pour les membres de panel négatifs.

Les échantillons offrant des résultats discordants ou équivoques ont été inclus dans l'analyse de variabilité du signal.

Pour les valeurs CV et SD équivalent à 0,0 la variabilité due à cette source est très faible comparée aux autres sources de variation.

Performance analytique des DTS Systems

Consultez la section *Performance analytique du TIGRIS DTS System* après le chapitre *Concordance des échantillons cliniques pour le TIGRIS DTS System* pour les caractéristiques de performance analytique spécifiques au TIGRIS DTS System.

Consultez la section *Performance analytique du PANTHER System* pour les caractéristiques de performance analytique spécifiques au PANTHER System.

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique (limites de détection) à *Chlamydia trachomatis* a été déterminée en comparant directement les dilutions des organismes CT dans la culture cellulaire et dans le test. La sensibilité analytique revendiquée pour le test est d'une unité de formation des inclusions (Inclusion Forming Unit, IFU) par test (7,25 IFU/écouvillon, 5,0 IFU/mL d'urine, et 9,75 IFU/mL de frottis en solution PreservCyt pour l'ensemble des 15 sérotypes CT (A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L1, L2 et L3). Toutefois, les dilutions inférieures à 1,0 IFU/test de l'ensemble des sérotypes ont donné des résultats positifs avec le test APTIMA COMBO 2.

La sensibilité analytique à *Neisseria gonorrhoeaea* a été déterminée en comparant directement les dilutions de 57 isolats cliniques différents par culture cellulaire et avec le test APTIMA COMBO 2 pour des échantillons sur écouvillon et d'urine et pour 20 isolats cliniques avec des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. La sensibilité analytique revendiquée pour le test est de 50 cellules/test (362 cellules/écouvillon, 250 cellules/mL d'urine, et 488 cellules/mL de frottis en solution PreservCyt). Toutefois, toutes les souches ont donné des résultats positifs avec moins de 50 cellules/test.

Spécificité analytique

Un total de 154 isolats de culture ont été évalués à l'aide du test APTIMA COMBO 2. Ces isolats comprenaient 86 organismes pouvant être isolés du tractus urogénital et 68 organismes supplémentaires qui représentent un croisement phylogénétique d'organismes. Les organismes testés comprenaient des bactéries, champignons, levures, parasites et virus. Tous les organismes à l'exception de *C. psittaci, C. pneumoniae*, et les virus ont été testés à $1,0 \times 10^6$ cellules/test à la fois dans le milieu de transport de l'écouvillon et dans celui de l'urine. Les organismes Chlamydia et Neisseria ont été testés dans le milieu PreservCyt. *C. psittaci* et *C. pneumoniae* ont été testées à $1,0 \times 10^5$ IFU/test. Les virus ont été analysés de la manière suivante : (a) les virus herpes simplex I et II : $2,5 \times 10^4$ $TCID_{50}$/test, (b) papillomavirus humain 16 : $2,9 \times 10^6$ copies de DNA/test et (c) cytomegalovirus : $4,8 \times 10^5$ cellules cultivées infectées/test. Seuls les échantillons CT et GC ont donné des résultats positifs avec le test APTIMA COMBO 2. La liste des organismes testés est présentée dans le tableau 15.

Tableau 15 : Spécificité analytique

Organisme	Organisme	Organisme
Achromobacter xerosis	*Escherichia coli*	*Neisseria mucosa (3)*
Acinetobacter calcoaceticus	*Flavobacterium meningosepticum*	*Neisseria sicca (3)*
Acinetobacter Iwoffi	*Fusobacterium nucleatum*	*Neisseria subflava (14)*
Actinomyces israelii	*Gardnerella vaginalis*	*Neisseria perflava*
Actinomyces pyogenes	*Gemella haemolysans*	*Neisseria polysaccharea*
Aerococcus viridans	*Haemophilus ducreyi*	*Paracoccus denitrificans*
Aeromonas hydrophila	*Haemophilus influenzae*	*Peptostreptococcus anaerobius*
Agrobacterium radiobacter	Virus de l'herpès simplex I	*Peptostreptococcus productus*
Alcaligenes faecalis	Virus de l'herpès simplex II	*Plesiomonas shigelloides*
Bacillus subtilis	Papillomavirus 16	*Propionibacterium acnes*
Bacteriodes fragilis	*Kingella dentrificans*	*Proteus mirabilis*
Bacteriodes ureolyticus	*Kingella kingae*	*Proteus vulgaris*
Bifidobacterium adolescentis	*Klebsiella oxytoca*	*Providencia stuartii*
Bifidobacterium brevi	*Klebsiella pneumoniae*	*Pseudomonas aeruginosa*
Branhamella catarrhalis	*Lactobacillus acidophilus*	*Pseudomonas fluorescens*
Brevibacterium linens	*Lactobacillus brevis*	*Pseudomonas putida*
Campylobacter jejuni	*Lactobacillus jensonii*	*Rahnella aquatilis*
Candida albicans	*Lactobacillus lactis*	*Rhodospirillum rubrum*
Candida glabrata	*Legionella pneumophila (2)*	*Saccharomyces cerevisiae*
Candida parapsilosis	*Leuconostoc paramensenteroides*	*Salmonella minnesota*
Candida tropicalis	*Listeria monocytogenes*	*Salmonella typhimurium*
Chlamydia pneumoniae	*Micrococcus luteus*	*Serratia marcescens*
Chlamydia psittaci (2)	*Moraxella lacunata*	*Staphylococcus saprophyticus*
Chromobacterium violaceum	*Moraxella osloensis*	*Staphylococcus aureus*
Citrobacter freundii	*Morganella morganii*	*Staphylococcus epidermidis*
Clostridium perfringens	*Mycobacterium smegmatis*	*Streptococcus agalactiae*
Corynebacterium genitalium	*Mycoplasma genitalium*	*Streptococcus bovis*
Corynebacterium xerosis	*Mycoplasma hominis*	*Streptococcus mitis*
Cryptococcus neoformans	*N. meningitidis Sérogroupe A*	*Streptococcus mutans*
Cytomégalovirus	*N. meningitidis Sérogroupe B*	*Streptococcus pneumoniae*
Deinococcus radiodurans	*N. meningitidis Sérogroupe C (4)*	*Streptococcus pyogenes*
Derxia gummosa	*N. meningitidis Sérogroupe D*	*Streptococcus salivarius*
Eikenella corrodens	*N. meningitidis Sérogroupe Y*	*Streptococcus sanguis*
Enterobacter aerogenes	*N. meningitidis Sérogroupe W135*	*Streptomyces griseinus*
Enterobacter cloacae	*Neisseria cinerea (4)*	*Trichomonas vaginalis*
Entercoccus avium	*Neisseria dentrificans*	*Ureaplasma urealyticum*
Entercoccus faecalis	*Neisseria elongata (3)*	*Vibrio parahaemolyticus*
Entercoccus faecium	*Neisseria flava*	*Yersinia enterocolitica*
Erwinia herbicola	*Neisseria flavescens (2)*	
Erysipelothrix rhusiopathiae	*Neisseria lactamica (9)*	

« (n) » représente le nombre de souches testées.

Tous les organismes testés ont produit un résultat négatif dans le test APTIMA COMBO 2 basé sur le type de profil cinétique et les RLU.

Substances interférentes

Les substances interférentes suivantes ont été ensemencées individuellement dans des échantillons d'écouvillon et de solution PreservCyt : sang 10 %, gel contraceptif, spermicide, hydratant, anesthésiant hémorroïdal, huile corporelle, poudre, crème anti-fongique, lubrifiants vaginaux, spray intime et leucocytes (1,0 x 10^6 cellules/mL). Les substances interférentes suivantes ont été ensemencées individuellement dans des échantillons d'urine : sang 30 %, analytes d'urine, protéines, glucose, cétones, bilirubine, nitrates, urobilinogène, pH 4 (acide), pH 9 (alcalin), leucocytes (1,0 x 10^6 cellules/mL), débris cellulaires, vitamines, minéraux, acétaminophène, aspirine et ibuprofène. Toutes ces substances ont été testées pour une interférence éventuelle au test en l'absence et en présence de CT et GC pour un rRNA estimé équivalent à 1,0 IFU CT/test (5 fg/test) et 50 cellules GC/test (250 fg/test). Les équivalents rRNA ont été calculés d'après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme.

Il n'a été relevé aucune interférence avec l'ensemble des substances testées. Aucun inhibiteur d'amplification n'a été observé avec le test APTIMA COMBO 2.

Récupération

Escherichia coli et *Gardnerella vaginalis* (2,4 x 10^5 cellules/test) et *Lactobacillus acidophilus*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides ureolyticus* et *Staphylococcus epidermis* (1,0 x 10^8 cellules/test) ont été ajoutés aux échantillons contenant l'équivalent rRNA d'approximativement 1,0 IFU CT (5 fg) et 50 cellules GC (250 fg). Ces ajouts n'ont pas interféré avec l'amplification ou la détection de CT ou GC rRNA en utilisant le test APTIMA COMBO 2.

Études de la stabilité des échantillons

A. Échantillons endocervicaux sur écouvillon

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon ont été générées avec des échantillons sur écouvillon négatifs groupés. Cinq échantillons groupés ont été ensemencés avec CT et GC à des concentrations finales respectives de 10 IFU et 100 CFU par réaction. Les échantillons ensemencés ont été conservés à -70 °C, -20 °C, 4 °C, et 30 °C. Les échantillons ont été testés en double aux jours 0, 20, 35, 60, et 90. Toutes les conditions de test étaient positives à la fois pour CT et pour GC pour toutes les durées et toutes les températures.

B. Échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

Les données destinées à confirmer les conditions d'expédition et de conservation recommandées pour les échantillons de frottis en mileu liquide PreservCyt ont été générées à partir d'chantillons négatifs groupés de solution PreservCyt. Quatre échantillons groupés ont été ensemencés avec CT et GC à des concentrations finales respectives de 10 IFU et 100 CFU par réaction. Les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt étaient placés à 30 °C pendant 7 jours, puis 1,0 mL de l'échantillon a été ajouté à un tube de transfert APTIMA. Les échantillons ensemencés ont été maintenus à 4 °C, 10 °C et 30 °C. Les échantillons conservés à 4 °C et 10 °C ont été testés en double aux jours 0, 6, 13, 26, 30 et 36. Les échantillons conservés à 30 °C ont été testés en double aux jours 0, 5, 8, 14 et 17. Quatre pools d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt ensemencés ont été ajoutés aux tubes de transfert APTIMA et placés à 30 °C pendant 14 jours avant d'être conservés à -20 °C ou -70 °C. Les échantillons à -20 °C et ceux à -70 °C ont été testés en double après 0, 30, 60, 90 et 106 jours de conservation. Toutes les conditions de test étaient positives pour CT et GC pour toutes les durées et toutes les températures.

C. Échantillons vaginaux sur écouvillon

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons sur écouvillon vaginaux ont été générées avec des échantillons sur couvillon négatifs combinés. Quinze pools d'échantillons vaginaux ont été ensemencés avec CT et GC à des concentrations finales respectives de 1,0 IFU et 50 CFU par réaction. Les échantillons ensemencés ont été conservés à -70 °C, -20 °C, 4 °C, et 30 °C. Les échantillons ont été testés en utilisant un aliquot aux jours 0, 20, 36, 73, et 114. Toutes les conditions de test étaient positives à la fois pour CT et pour GC pour toutes les durées et toutes les températures.

D. Échantillons d'urine

Les données destinées à confirmer les conditions de transport et de conservation recommandées pour les échantillons d'urine ont été générées avec 10 échantillons d'urine féminins et 10 échantillons d'urine masculins négatifs. Les échantillons d'urine ont été ensemencés avec CT et GC à des concentrations finales respectives de 10 IFU et 100 CFU par réaction. Les deux jeux d'échantillons d'urine ensemencés ont été maintenus à 4 °C et 30 °C pendant 24 heures avant d'être ajoutés au Moyen de transport d'urine (UTM). Les deux jeux d'échantillons UTM ont été maintenus entre 4 °C et 30 °C, et testés en triple aux jours 0, 1, 5, 20, et 35. Tous les échantillons ont été positifs pour CT et GC lorsque les échantillons d'urine ont été maintenus à 4 °C avant l'ajout de l'UTM. Lorsque les échantillons d'urine ont été maintenus à 30 °C avant l'ajout de l'UTM, tous les échantillons ont été positifs pour CT et 95 % l'ont été pour GC au Jour 35. Ces mêmes échantillons ont été testés après 116 jours de conservation à -20 °C et -70 °C. Tous les échantillons ont été positifs pour CT et GC dans les deux conditions de conservation.

E. Etude de stabilité supplémentaire des échantillons congelés (à -20 °C)

Les données destinées à valider les conditions de conservation à -20 °C préconisées pour les échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux sur écouvillon, vaginaux sur écouvillon, d'urine féminins et masculins, et de frottis en milieu liquide PreservCyt ont été obtenues à l'aide de 90 échantillons pour chaque type ayant produit un résultat négatif. Parmi ces échantillons, 30 d'entre eux ont été ensemencés avec CT et GC à 1,0 IFU et 50 CFU par réaction respectivement, 30 échantillons ont été ensemencés à 0,1 IFU et 5 CFU respectivement, et 30 échantillons n'ont pas été ensemencés. Les échantillons ont été conservés à -20 °C et puis analysés au jours 0, 200 et 400. Tous les échantillons ensemencés ont réuni les critères d'acceptation, à savoir une concordance supérieure à 95 % concernant les résultats attendus.

Concordance des échantillons cliniques pour le TIGRIS DTS System

Concordance avec le TIGRIS DTS System

La concordance entre les résultats du test APTIMA COMBO 2 générés par le TIGRIS DTS System entièrement automatique et les DTS Systems semi-automatiques a été évalué en analysant les échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux mâles sur écouvillon, d'urine masculins et féminins, vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt. Chacun des échantillons cliniques a été analysé individuellement avec le test APTIMA COMBO 2 sur le TIGRIS DTS System et les DTS Systems chez Gen-Probe.

Étude de la concordance des échantillons cliniques - Échantillons endocervicaux et mâles urétraux sur écouvillon, échantillons d'urine masculins et féminins

Des sujets masculins et féminins se rendant dans des cliniques pour MST, des centres de soins d'urgence, des dispensaires, et des centres de planning familial ont été enrôlés dans sept sites cliniques géographiquement répartis avec des taux de prévalence variant de faible à élevé pour CT et GC. L'étude de la concordance des échantillons cliniques a évalué la concordance des deux systèmes en utilisant des échantillons sur écouvillon et d'urine de 485 sujets masculins et 576 sujets féminins. Sur les 1991 échantillons testés, un faible pourcentage a donné initialement des résultats invalides ou équivoques pour CT ou GC sur le TIGRIS DTS System (20 ; 1,0 %) et sur les DTS Systems (14 ; 0,7 %). Lors de la répétition des tests, deux (2) échantillons cliniques ont donné des résultats GC équivoques sur le TIGRIS DTS System et n'ont pas été inclus dans les calculs d'équivalence. Le pourcentage de concordance globale ainsi que les pourcentages de concordances positifs et négatifs ont été calculés. Les échantillons donnant des résultats discordants entre les DTS Systems et le TIGRIS DTS System ont été testés avec les tests d'amplification TMA alternatifs pour CT et GC, qui sont des tests d'amplification de l'acide nucléique (nucleic acid amplification test, NAAT) ciblant les séquences rRNA de CT ou de GC distinctes de celles ciblées avec le test APTIMA COMBO 2. Des analyses répétitives ont également été effectuées avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems pour les échantillons dont les résultats étaient discordants entre le TIGRIS DTS System et les DTS Systems.

Les tableaux 16 et 17 présentent le pourcentage de concordance globale pour tous les résultats de test appariés obtenus sur le TIGRIS DTS System et les DTS Systems respectivement pour les échantillons sur écouvillon et d'urine. La concordance globale était de 98,3 % pour les échantillons sur écouvillon et de 99,2 % pour les échantillons d'urine. Se référer au tableaux 5a et 9a pour les estimations de la performance du test APTIMA COMBO 2 avec des échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux mâles sur écouvillon, ainsi que les échantillons d'urine féminins et masculins testés sur les DTS Systems. Les estimations de la performance clinique du TIGRIS DTS System avec des échantillons endocervicaux sur écouvillon, urétraux mâles sur écouvillon ainsi que des échantillons d'urine masculins et féminins devraient être similaires compte-tenu de la concordance des résultats.

Étude de la concordance des échantillons cliniques – échantillons vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt

Des sujets féminins se rendant dans des centres pour MST, des dispensaires, et des cliniques d'obsétrique/gynécologie ont contribué aux échantillons vaginaux sur écouvillon et aux échantillons de lfrottis en milieu liquide PreservCyt. Les échantillons vaginaux sur écouvillon ont été transférés directement chez Gen-Probe pour être testés alors que les échantillons de lfrottis en mileiu liquide PreservCyt Pap ont été traités dans 2 laboratoires de cytopathologie avant leur transfert. Chez Gen-Probe, les échantillons vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt ont d'abord été analysés avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems. Les échantillons ayant des résultats définitifs invalides ou équivoques sur les DTS Systems n'ont pas été retenus pour des tests supplémentaires sur le TIGRIS DTS System. Les échantillons positifs avec le test APTIMA COMBO 2 et un sous-ensemble d'échantillons négatifs avec le test APTIMA COMBO 2 ont été retenus pour des analyses comparatives sur le TIGRIS DTS System. Cent soixante-dix (170) échantillons vaginaux sur écouvillon et 170 échantillons en solution PreservCyt provenant de 181 sujets féminins ont été testés sur les deux systèmes. La majorité des échantillons (110 échantillons vaginaux sur écouvillon et 107 échantillons en solution PreservCyt) sélectionnés pour des tests comparatifs provenaient de femmes symptomatiques. Dix-sept (17) listes de travail ont été initiées : 13 (76,5 %) étaient valides et 4 (23,5 %) ont été invalidées en raison d'un bruit de fond élevé détecté au luminomètre de l'appareil. L'appareil présentait des raccords Detect 1 et 2 lâches qui auraient pu laisser l'air pénétrer dans les tubulures ou des quantités incorrectes de réactifs de détection s'injecter. Ces listes de travail se sont avérées valides lorsque le test a été répété. Sur les 340 échantillons testés, aucun n'a donné de résultats de test invalides ou équivoques sur le TIGRIS DTS System.

Les tabeaux 18 et 19 présentent les pourcentages des concordances globales concernant la détection de CT et GC pour tous les résultats de tests appariés obtenus sur le TIGRIS DTS System et les DTS Systems pour les échantillons vaginaux sur écouvillon et les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Les concordances globales étaient de 98,2 % pour les échantillons vaginaux sur écouvillon et de 98,2 % pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt. Se référer aux tableaux 5b, 5c, 9b et 9c pour consulter les estimations de la performance du test APTIMA COMBO 2 pour les échantillons vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt sur les DTS Systems. Les estimations de la performance clinique pour le TIGRIS DTS System avec des échantillons vaginaux sur écouvillon et des échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt devraient normalement être similaires compte-tenu des résultats de la concordance.

Étude de la concordance du panel clinique CT/GC - échantillons endocervicaux et urétraux masculins sur écouvillon, échantillons d'urine masculins et féminins

L'étude de concordance du panel clinique CT/GC a évalué l'équivalence entre les deux systèmes en utilisant 13 panels cliniques CT/GC préparés par Gen-Probe et contenant de 0 à 2500 Unités de formation des inclusions (Inclusion Forming Units, IFU)/mL de CT et/ou de 0 à 125 000 Unités formatrices de colonie (Colony Forming Units, CFU)/mL de GC. Les panels cliniques CT/GC ont été créés à partir d'échantillons sur écouvillon et d'urine collectés auprès de 222 sujets masculins et de 117 sujets féminins qui ont été définis comme étant non infectés sur la base de résultats négatifs obtenus avec le test APTIMA COMBO 2 avec les DTS Systems. Chacun des 13 panels CT/GC consistait en 5 réplicats de chaque type d'échantillon (écouvillon endocervical, écouvillon urétral mâle, échantillon d'urine féminin, échantillon d'urine masculin) pour un total de 20 réplicats par panel.

Le tableau 20 présente les pourcentages de concordance avec les résultats CT et GC prévus pour le TIGRIS DTS System et pour les DTS Systems pour chacun des 13

panels CT/GC. La plage de concentrations s'étendait d'un dixième à 1000 fois les seuils d'analyse revendiqués pour le test APTIMA COMBO 2, soit 1 IFU/test pour CT et 50 CFU/test pour GC. Le tableau 20 présente également le pourcentage de concordance globale (99,3 %) entre les résultats du panel CT/GC avec le TIGRIS DTS System et les DTS Systems. Les concordances positives et négatives sont présentées dans les tableaux 21 et 22 pour les résultats des panels CT et GC, respectivement. Pour les panels d'écouvillons et d'urine, les concordances positives étaient respectivement de 100 % et de 96,2 % pour CT, et tous deux de 100 % pour GC. Les concordances négatives pour les écouvillons et l'urine étaient respectivement de 100 % et de 98,0 % pour CT, et tous deux de 100 % pour GC. Trois des 5 réplicats des panels d'urine féminins, dont la concentration était inférieure par un log au seuil de sensibilité analytique revendiqué pour le test APTIMA COMBO 2 de 1 IFU/test pour CT, ont donné des résultats CT- sur le TIGRIS DTS System. Un des 5 réplicats du panel d'urine féminin provenant d'un panel distinct était CT- sur les DTS Systems.

Tableau 16 : Étude de concordance des échantilllons cliniques : résultats pour les échantillons endocervicaux et uréthraux masculins sur écouvillon[1]

TIGRIS DTS System	DTS Systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	**30**	0	0	0	30
CT+/GC-	0	**108**	0	2[5]	110
CT-/GC+	1[2]	0	**67**	0	68
CT-/GC-	0	12[3]	2[4]	**796**	810
Total	31	120	69	798	1018
Pourcentage de concordance (IC à 95 %)	96,8 % (83,3-99,9)	90,0 % (83,2-94,7)	97,1 % (89,9-99,6)	99,7 % (99,1-100)	S.O.
Pourcentage de concordance globale (IC à 95 %) : 98,3 % (97,3-99,0)					

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, s.o. = sans objet.

[1]Données non présentées : les résultats de deux échantillons étaient équivoques pour CT-/GC aussi bien sur le TIGRIS DTS System que les DTS Systems. Un échantillon a donné un résultat CT-/GC- sur le TIGRIS DTS System, mais un résultat CT-/GC équivoque sur les DTS Systems. Lorsque cet échantillon a été réanalysé avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems, le résultat obtenu était CT-/GC-. L'échantillon a également donné un résultat GC- dans un test d'amplification TMA alternatif.

[2]1/1 était CT+/GC+ lors du second test sur les DTS Systems et CT+ lors du test d'amplification TMA alternatif.

[3]11 échantillons sur 12 ont été réanalysés. 11/11 étaient CT-/GC- lors de leur réanalyse avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems. 9/11 étaient CT- lors du test avec le test d'amplification TMA alternatif et 2/11 étaient CT+.

[4]2/2 étaient CT-/GC- lors de leur réanalyse avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems et GC- avec le test d'amplification TMA alternatif.

[5]2/2 étaient CT-/GC- lors de leur réanalyse avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems et CT- avec le test d'amplification TMA alternatif.

Tableau 17 : Étude de concordance des échantillons cliniques : résultats pour les échantillons d'urine féminins et masculins

TIGRIS DTS System	DTS Systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	**32**	0	0	0	32
CT+/GC-	0	**100**	0	1[3]	101
CT-/GC+	0	0	**52**	0	52
CT-/GC-	0	8[1]	1[2]	**776**	785
Total	32	108	53	777	970
Pourcentage de concordance (IC à 95 %)	100 % (89,1-100)	92,6 % (85,9-96,7)	98,1 % (89,9-100)	99,9 % (99,3-100)	S.O.
Pourcentage de concordance globale (IC à 95 %) : 99,2 % (98,1-99,5)					

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, s.o. = sans objet.

[1] 7/8 étaient CT-/GC- lors de leur réanalyse avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems et CT- avec le test d'amplification TMA alternatif.
1/8 étaient CT+/GC- lors de leur réanalyse avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems et CT+ avec le test d'amplification TMA alternatif.

[2] 1/1 était CT-/GC- lors de son réanalyse avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems et CG- avec le test d'amplification TMA alternatif.

[3] 1/1 était CT-/GC- lors de son réanalyse avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems et CT+ avec le test d'amplification TMA alternatif.

Tableau 18 : Étude de concordance des échantillons cliniques : résultats pour les échantillons vaginaux sur écouvillon

TIGRIS DTS System	DTS Systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	**26**	0	0	0	26
CT+/GC-	0	44	0	2	46
CT-/GC+	0	0	**24**	0	24
CT-/GC-	0	0	1	73	74
Total	26	44	25	75	170
Pourcentage de concordance (IC à 95 %)	100 % (86,8-100)	100 % (92,0-100)	96,0 % (79,6-99,9)	97,3 % (90,7-99,7)	S.O.
Pourcentage de concordance globale (IC à 95 %) : 98,2 % (94,9 à 99,6)					

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, s.o. = sans objet

Tableau 19 : Étude de concordance des échantillons cliniques : résultats pour les frottis en milieu liquide PreservCyt

TIGRIS DTS System	DTS Systems				Total
	CT+/GC+	CT+/GC-	CT-/GC+	CT-/GC-	
CT+/GC+	**26**	0	0	0	26
CT+/GC-	0	**44**	0	1	45
CT-/GC+	0	0	**24**	0	24
CT-/GC-	0	1	1	**73**	75
Total	26	45	25	74	170
Pourcentage de concordance (IC à 95 %)	100 % (86,8-100)	97,8 % (88,2-99,9)	96,0 % (79,6-99,9)	98,6 % (92,7-100)	S.O.
Pourcentage de concordance globale (IC à 95 %) : 98,2 % (94,9 à 99,6)					

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, s.o. = sans objet.

Tableau 20 : Étude de la concordance du panel clinique CT/GC : concordance avec les résultats CT et GC prévus pour les panels des écouvillons endocervicaux, des écouvillons urétraux mâles, et des échantillons d'urine masculins et féminins

Membre du panel CT/GC	Concentration des échantillons du panel[1]		Réplicats	CT		GC	
	CT IFU/mL	GC CFU/mL		TIGRIS % concordance	DTS % concordance	TIGRIS % concordance	DTS % concordance
Faible/Faible	2,5	125	20	100	100	100	100
Faible/Élevée	2,5	125 000	20	100	95[3]	100	100
Élevée/Faible	2500	125	20	100	100	100	100
Élevée/Élevée	2500	125 000	20	100	100	100	100
Très faible/Nég.	0,25[2]	0	20	85[4]	100	100	100
Faible/Nég.	2,5	0	20	100	100	100	100
Moyen/Nég.	25	0	20	100	100	100	100
Élevée/Nég.	2500	0	20	100	100	100	100
Nég./Très faible	0	12,5	20	100	100	100	100
Nég./Faible	0	125	20	100	100	100	100
Nég./Moyen	0	1250	19	100	100	100	100
Nég./Élevée	0	125 000	20	100	100	100	100
Nég./Nég.	0	0	20	100	100	100	100
Pourcentage de concordance globale entre TIGRIS et DTS (IC à 95 %) : 99,3 % (98,3 à 99,8)							

IFU = Inclusion Forming Units (unités de formation d'inclusions), CFU = Colony Forming Units (unités de formation de colonies), TIGRIS %concordance = concordance entre les résultats attendus et TIGRIS DTS System, DTS %concordance = concordance entre les résultats attendus et DTS Systems.

[1]Un tube de collecte contient environ 2,9 mL de milieu de transport pour les échantillons sur écouvillon et 4,0 mL de milieu de transport/mélange pour urine pour les échantillons d'urine.

[2]La concentration de CT pour cet échantillon du panel clinique CT/GC se situe un log en-dessous du seuil de sensibilité analytique revendiquée pour le test APTIMA COMBO 2 qui est de 1 IFU/test (7,25 IFU/écouvillon, 5 IFU/mL d'urine).

[3]Un des 5 réplicats du panel d'urine féminin provenant d'un panel distinct était CT- sur les DTS Systems.

[4]Trois des 5 réplicats du panel d'urine féminine étaient CT- sur le TIGRIS DTS System.

Tableau 21 : Étude de la concordance du panel clinique CT/GC : résultats CT pour les panels endocervicaux, uréthraux sur écouvillon et d'urine féminine et masculine

Échantillon	N	DTS+ TIGRIS+ n	DTS+ TIGRIS- n	DTS- TIGRIS+ n	DTS- TIGRIS- n	Concordance positive (IC à 95 %)	Concordance négative (IC à 95 %)
Écouvillon	129	80	0	0	49	100 (95,5-100)	100 (92,7-100)
Urine	130	76	3[1]	1[2]	50	96,2 (89,3-99,2)	98,0 (89,6-100)

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, IC = intervalle de confiance.

[1] Trois des 5 réplicats du panel d'urine féminine, dont la concentration se situait un log en-dessous du seuil de sensibilité analytique revendiquée pour le test APTIMA COMBO 2, soit 1 IFU/test pour CT, ont donné des résultats CT- sur le TIGRIS DTS System.

[2] Un des 5 réplicats du panel d'urine féminine était CT- sur les DTS Systems.

Tableau 22 : Étude de la concordance du panel clinique CT/GC : résultats GC pour les panels endocervicaux, uréthraux sur écouvillon et d'urine féminine et masculine

Échantillon	N	DTS+ TIGRIS+ n	DTS+ TIGRIS- n	DTS- TIGRIS+ n	DTS- TIGRIS- n	Concordance positive (IC à 95 %)	Concordance négative (IC à 95 %)
Écouvillon	129	79	0	0	50	100 (95,4-100)	100 (92,9-100)
Urine	130	80	0	0	50	100 (95,5-100)	100 (92,9-100)

+ dénote un résultat positif, - dénote un résultat négatif, IC = intervalle de confiance, TIGRIS = TIGRIS DTS System.

Étude de précision

La précision du TIGRIS DTS System (c.-à-d. la reproductibilité) a été évaluée chez Gen-Probe et sur un site clinique externe. La précision du test APTIMA COMBO 2 a été évaluée pour trois TIGRIS DTS Systems sur deux sites d'étude et avec deux lots de kits APTIMA COMBO 2 et quatre opérateurs. Le tableau 23 présente les données de précision concernant des mesures RLU pour ce qui est des valeurs moyennes, de l'écart-type (SD), du coefficient de variation (CV) et du pourcentage de concordance avec les résultats attendus calculés pour les variabilités entre sites, entre lots, entre opérateurs, entre séries et au sein d'une même série.

Sur le site externe, deux opérateurs ont réalisé trois listes de travail (autrement dit, des séries) par lot de kit du test APTIMA COMBO 2 sur un TIGRIS DTS System, effectuant un total de 6 listes de travail chacun. Chez Gen-Probe, deux opérateurs ont réalisé trois listes de travail par lot de kit APTIMA COMBO 2 sur chacun des deux TIGRIS DTS Systems, effectuant ainsi un total de 12 listes de travail chacun. Il y a donc eu au total 36 listes de travail effectuées. Chaque liste de travail se composait de six panels de précision identiques de 12 membres contenant de 0 à 2000 fg/test de CT rRNA et/ou de 0 à 2433 fg/test de GC rRNA. Chaque liste de travail se composait de six panels de précision identiques de 12 membres contenant de 0 à 2000 fg/test de CT rRNA et/ou de 0 à 5000 fg/test de GC rRNA. Les échantillons des panels contenant CT et GC ont été classés comme ayant des concentrations de CT faibles (5 ou 100 fg/test), moyennes (1000 fg/test), ou élevées (≥ 2000 fg/test) et ayant des concentrations de GC faibles (≤ 250 fg/test), moyennes (environ 2400 fg/test), ou élevées (5000 fg/test). La reproductibilité a été établie en ensemançant le milieu de transport de l'écouvillon avec rRNA. La reproductibilité lors des tests d'échantillons sur écouvillon et urinaires contenant l'organisme cible n'a pas été déterminée. La précision a été estimée conformément aux directives NCCLS (NCCLS document EP5-A (22).

Tableau 23 : Données de précision pour le TIGRIS DTS System

Conc.					Intra-série		D'un site à l'autre		D'un lot à l'autre		D'un opérateur à l'autre		D'une série à l'autre	
CT	GC	N	Moyenne RLU (x1000)	% Concord.	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)	SD (RLU x1000)	CV (%)
Nég.	Nég.	647	4	100	1,25	26,2	0,66	13,9	0,05	1,0	0,08	1,7	0,30	6,4
Nég.	Elevée	215	1216	100	28,5	2,3	61,2	5,0	10,0	0,8	0	0	17,1	1,4
Elevée	Nég.	216	1266	100	38,8	3,0	0	0	93,1	7,3	40,8	3,2	40,4	3,1
Elevée	Elevée	210	2445	100	54,2	2,2	40,0	1,6	110,3	4,5	28,4	1,1	52,3	2,1
Nég.	Faible[1]	217	1132	100	30,3	2,6	61,0	5,3	0	0,0	20,7	1,8	18,5	1,6
Faible[1]	Nég.	214	1053	100	72,8	6,9	1,5	0,1	73,8	7,0	28,5	2,7	26,9	2,5
Moy.	Moy.	214	2429	100	48,8	2,0	40,0	1,6	101,1	4,1	0	0	52,9	2,1
Faible[1]	Faible[1]	216	2112	99,5	112,3	5,3	84,1	3,9	33,2	1,5	34,2	1,6	52,9	2,5
Faible[1]	Elevée	216	2282	100	77,3	3,3	97,8	4,2	59,3	2,6	0	0	41,7	1,8
Elevée	Faible[1]	215	2318	100	61,1	2,6	50,7	2,1	86,2	3,7	4,6	0,2	42,4	1,8

SD = écart-type, %CV = pourcentage du coefficient de variation, %Concord. = pourcentage de concordance, Conc. = concentration.

Remarque : la variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Si tel est le cas, la variabilité telle que mesurée avec l'écart-type et le %CV est établi à zéro. Consultez les directives NCCLS approuvées EP5-A (22).

[1]Des échantillons de panel à faible concentration ont été ensemencés aux seuils de sensibilité analytique revendiqués pour le test (5 fg CT rRNA/test, 250 fg GC rRNA/test, ou les deux pour l'échantillon doublement positif). Pour CT, le niveau cible testé équivaut approximativement à 36 fg/écouvillon et 25 fg/mL d'urine. Pour GC, le niveau cible testé équivaut approximativement à 1800 fg/écouvillon et 1250 fg/mL d'urine. En se basant sur la taille du génome et le rapport estimé DNA/RNA par cellule pour chaque organisme, 5 fg équivaut à 1 IFU de CT et 250 fg équivaut à 50 cellules de GC.

Performance analytique du TIGRIS DTS System

Consultez la section *Performance analytique du PANTHER System* pour la performance analytique spécifique au PANTHER System.

Étude de l'équivalence de la sensibilité analytique

Les dilutions de trois sérotypes de CT (E, F, G) associés aux infections de l'appareil génito-urinaire ont été testés en parallèle sur trois appareils du TIGRIS DTS System et sur les DTS Systems. Les sérotypes CT ont été dilués dans le milieu de transport pour écouvillon et un pool d'échantillons d'urine traités. Les concentrations variaient de 3 Unités de formation des inclusions (IFU) par test à 0,1 IFU par test, soit un log au-dessous de la sensibilité analytique revendiquée pour le test d'une IFU par test (7,25 IFU/écouvillon, 5 IFU/mL d'urine). Le pourcentage de positivité entre le TIGRIS DTS System et les DTS Systems se situait dans l'intervalle de confiance à 95 % pour les trois sérotypes jusqu'au seuil de sensibilité analytique revendiqué. Les dilutions inférieures à ce taux ont aussi donné des résultats positifs sur les deux plate-formes. Dans l'ensemble, la sensibilité était comparable entre le TIGRIS DTS System et les DTS Systems pour un seuil de détection d'une IFU par test.

Un panel de sensibilité d'un pool d'échantillons vaginaux et un panel de sensibilité d'un pool d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt Pap après traitement ont été préparés à tune concentration de 5 fg rRNA de CT et 60 réplicats ont été testés sur le TIGRIS DTS System. Le pourcentage de positivité avec le TIGRIS DTS System (IC à 95 %) était de 100 % (95,1 à 100) pour les échantillons vaginaux sur écouvillon et de 100 % (95,1 à 100) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement.

Des dilutions de trois isolats cliniques de GC ont été testées en parallèle sur le TIGRIS DTS System et sur les DTS Systems. Les isolats de GC ont été dilués dans le milieu de transport pour écouvillon et un pool d'échantillons d'urine traités. Les concentrations variaient de 150 cellules par test à 5 cellules par test, soit un log au-dessous de la sensibilité analytique revendiquée pour le test de 50 cellules/test (362 cellules/écouvillon, 250 cellules/mL d'urine). Le pourcentage de positivité entre le TIGRIS DTS System et les DTS Systems se situait dans l'intervalle de confiance à 95 % pour les trois isolats jusqu'au seuil de sensibilité analytique revendiqué. Les dilutions inférieures à ce taux ont aussi donné des résultats positifs sur les deux plate-formes. Dans l'ensemble, la sensibilité était comparable entre le TIGRIS DTS System et les DTS Systems pour un seuil de détection de 50 cellules par test.

Un panel de sensibilité d'un pool d'échantillons vaginaux et un panel de sensibilité d'un pool d'échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement ont été préparés à cune concentration de 250 fg rRNA de GC et 60 réplicats ont été testés sur le TIGRIS DTS System. Le pourcentage de positivité avec le TIGRIS DTS System (IC à 95 %) était de 100 % (95,1 à 100) pour les échantillons vaginaux sur écouvillon et de 100 % (95,1 à 100) pour les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement.

Étude des panels cliniques enrichis avec du rRNA CT/GC – échantillons vaginaux sur écouvillon et échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt

L'étude des panels cliniques enrichis avec du rRNA de CT/GC a évalué lla concordance entre les deux systèmes en utilisant deux panels cliniques CT/GC préparés par Gen-Probe et enrichis avec de 0 à 5000 fg rRNA/test de CT et/ou de 0 à 250 000 fg rRNA/test de GC. Les panels cliniques CT/GC ont été créés à partir d'échantillons vaginaux sur écouvillon et de frottis en milieu liquide PreservCyt recueillis chez 309 sujets féminins dont les

échantillons avaient donné des résultats négatifs avec le test APTIMA COMBO 2 sur les DTS Systems lorsqu'ils ont été testés chez Gen-Probe. Les échantillons négatifs ont été groupés par type d'échantillon, ensemencés ou non ensemencés avec du rRNA de CT et/ou de GC et aliquotés comme réplicats de chaque échantillon du panel. Les réplicats de chacun des 13 échantillons du panel ensemencés avec des concentrations de rRNA différentes ont été combinés pour créer un panel clinique pour chaque type de prélèvement. Chaque panel contenait un total de 132 réplicats.

Un réplicat d'écouvillon vaginal provenant d'un échantillon de panel ayant une très faible concentration de CT (0,05 fg rRNA/test) a donné un résultat CT équivoque sur les DTS Systems.

Le tableau 24 présente les pourcentages de concordance pour chaque concentration de rRNA, respectivement pour les panels d'écouvillons vaginaux et de frottis en milieu liquide PreservCyt, avec les résultats attendus pour CT et GC sur le TIGRIS DTS System et les DTS Systems. Les concentrations s'échelonnaient de 1 log en dessous à 3 log au-dessus des 5 fg rRNA/test pour CT et 250 fg rRNA/test pour GC. Le tableau 24 montre également les pourcentages de concordance globales (99,2 % pour le panel d'écouvillons vaginaux et 100 % pour le panel de frottis en milieu liquide PreservCyt).

Tableau 24 : Étude clinique de la concordance des panels enrichis avec du rRNA CT/GC : concordance avec les résultats attendus pour CT et GC pour le panel des écouvillons vaginaux et le panel de lfrottis en milieu liquide PreservCyt

Membre du panel CT/GC	Concentration (fg de rRNA/ test)		Réplicats	Panel des écouvillons vaginaux				Panel de frottis en milieu liquide PreservCyt			
				CT		GC		CT		GC	
	CT	GC		TIGRIS % concor-dance	DTS % concor-dance	TIGRIS % concor-dance	DTS % concor-dance	TIGRIS % concor-dance	DTS % concor-dance	TIGRIS % concor-dance	DTS % concor-dance
Faible/Faible	5	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Faible/Élevée	5	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Élevée/Faible	5000	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Élevée/Élevée	5000	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Très faible/ Nég.	0,5	0	10	100	88.9[1]	100	100	100	100	100	100
Faible/Nég.	5	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Moyen/Nég.	50	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Élevée/Nég.	5000	0	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nég./Très faible	0	25	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nég./Faible	0	250	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nég./Moyen	0	2500	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nég./Élevée	0	250 000	10	100	100	100	100	100	100	100	100
Nég./Nég.	0	0	12	100	100	100	100	100	100	100	100
				Pourcentage de concordance globale entre TIGRIS et DTS (IC à 95 %) : 99,2 % (95,8–100)				Pourcentage de concordance globale entre TIGRIS et DTS (IC à 95 %): 100 % (97,2–100)			

DTS %Concordance = concordance entre les DTS Systems et les résultats attendus, TIGRIS %Concordance = concordance entre le TIGRIS DTS System et les résultats attendus.

[1] 1 réplicat sur 10 a donné un résultat CT équivoque sur les DTS Systems et a été exclu de cette analyse. 8/9 ont concordé avec les résultats attendus. 1/9 a été CT- sur les DTS Systems. La concentration CT de ce membre du panel est 1 log en-dessous de 5 fg rRNA/test.

Étude de l’équivalence de la spécificité analytique

Pour un test d’amplification de l’acide nucléique, la spécificité analytique concernant les organismes individuels est largement déterminée par la chimie du test (par ex., séquences d’olignucléotides) plutôt que par la plate-forme. Étant donné que les réactifs du test APTIMA COMBO 2 sont identiques pour le TIGRIS DTS System et les DTS Systems, les expérimentations de spécificité analytique sur le TIGRIS DTS System étaient destinées à porter sur les isolats de culture les plus complexes. Parmi ces organismes figuraient ceux qui sont connus pour avoir une réactivité croisée dans d’autres tests d’amplification. Vingt-quatre (24) isolats de culture ont été sélectionnés dans le panel d’organismes du tableau 15, y compris 3 organismes qui sont très étroitement apparentés à CT et 17 organismes étroitement apparentés à GC. Tous les organismes testés ont donné des résultats négatifs sur le TIGRIS DTS System.

Étude de l’équivalence des substances interférentes

Le sang, une substance que l’on trouve couramment dans les échantillons urogénitaux, peut interférer avec certains tests d’amplification. Le sang total a été utilisé pour établir le degré d’interférence du sang sur le TIGRIS DTS System et l’équivalence entre le TIGRIS DTS System et les DTS Systems concernant ce potentiel d’interférence. Du sang frais a été ajouté aux pools d’écouvillons cliniques, d’écouvillons vaginaux, d’échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt déjà traités, et d’échantillons d’urine, puis testés pour toute interférence éventuelle avec le test en l’absence ou en présence de CT et GC cible. L’équivalent rRNA estimé d’une CT IFU/test (5 fg/test) et de 50 GC cellules/test (250 fg/test) a été utilisé étant donné qu’il représente la sensibilité analytique du test. Les équivalents rRNA ont été calculés d’après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme. Les échantillons ont été testés sur deux TIGRIS DTS Systems. Tous les échantillons contenant de l’acide nucléique cible ont été positifs lorsqu’ils ont été testés à un taux de 10 % (vol/vol) de sang dans les échantillons sur écouvillon, les échantillons vaginaux sur écouvillon, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement et 30 % (vol/vol) de sang dans les échantillons d’urine. Tous les échantillons qui ne contenaient pas la cible ont été correctement identifiés comme étant négatif à CT et GC. Ces résultats sont identiques à ceux démontrés pour les DTS Systems lorsqu’ils sont enrichis avec les mêmes quantités de sang.

Le sang ajouté aux écouvillons, écouvillons vaginaux, échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt après traitement, et échantillons d’urine à des taux bien supérieurs à ce que l’on pourrait s’attendre avec une collecte d’échantillons normale, n’a pas interféré avec les résultats sur le TIGRIS DTS System.

Études de la contamination de transfert pour le TIGRIS DTS System

Afin d'établir que le TIGRIS DTS System minimise les risques de résultats faussement positifs liés à une contamination de transfert, une étude analytique de plusieurs jours a été réalise à l'aide de panels ensemencés sur trois TIGRIS DTS Systems. L'étude a utilisé 20 % des échantillons avec une valeur cible élevée contenant 1,0 x 10^9 cellules/réaction, qui ont été aléatoirement répartis parmi les 80 % d'échantillons négatifs contenant le milieu de transport de l'écouvillon. Pendant la durée de l'étude, 1372 échantillons avec une valeur cible élevée et 5516 échantillons négatifs ont été testés sur les trois TIGRIS DTS Systems. Le taux de contamination de transfert global, résultats faussement positifs et équivoques compris, a été en moyenne de 0,3 % (18/5491). Au total, 25 échantillons négatifs ont été signalés comme invalides et exclus des calculs. Une analyse séparée a été effectuée sur un sous-ensemble de la population de l'étude constitué des échantillons négatifs ayant immédiatement suivi des résultats positifs avec une valeur cible élevée. Le taux de contamination de transfert pour ce sous-ensemble de la population, résultats faussement positifs et équivoques compris, a été en moyenne de 1,1 % (12/1 097). Concernant les résultats faussement positifs de ce sous-ensemble, le taux de contamination de transfert a varié de 0 % à 1,1 % sur les trois TIGRIS DTS Systems. Concernant les résultats équivoques de ce sous-ensemble, le taux de contamination de transfert a varié de 0 % à 0,9 % sur les trois TIGRIS DTS Systems. Ces résultats ont démontré que la contamination est minimisée sur le TIGRIS DTS System.

Performance analytique du PANTHER System

Étude de la concordance du panel clinique ensemencé

Des échantillons d'urine individuel pour lesquels des résultats négatifs avaient été obtenus ont été ensemencés avec CT sérotype G, GC, ou une combinaison de CT et de GC afin de constituer un panel de 120 échantillons positifs pour CT, 120 échantillons positifs pour GC et 120 échantillons doublement positifs. Les échantillons du panel positifs pour CT ont été ensemencés avec des microorganismes à des concentrations de 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL ou 25 IFU/mL (soit 0,5 fg/test, 5 fg/test ou 50 fg/test). Les échantillons du panel positifs pour GC ont été ensemencés avec des microorganismes à des concentrations de 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL ou 1250 CFU/mL (25 fg/test, 250 fg/test ou 2500 fg/test). Les échantillons doublement positifs ont été ensemencés avec 2,5 IFU/mL (5 fg/test) de CT et 2 500 000 CFU/mL (5 000 000 fg/test) de GC, ou 25 IFU/mL (50 fg/test) de CT et 1250 CFU/mL (2500 fg/test) de GC, ou 25 000 IFU/mL (50 000 fg/test) de CT et 125 CFU/mL (250 fg/test) de GC, ou 2,5 IFU/mL (5 fg/test) de CT et 125 CFU/mL (250 fg/test) de GC. De plus, 120 échantillons d'urine négatifs pour CT et GC ont été collectés. Les trois panels positifs et négatifs ont été analysés sur trois PANTHER Systems et trois TIGRIS DTS Systems. Le pourcentage de concordance positive entre le PANTHER System et le TIGRIS DTS System était de 100 % avec une borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % située à 99,5 pour CT et GC. Le pourcentage de concordance négative entre le PANTHER System et le TIGRIS DTS System était de 99,9 % avec une borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % située à 99,5. Les résultats de cette étude sont présentées dans le tableau 25.

Tableau 25 : Étude de la concordance du panel clinique ensemencé : Concordance avec les résultats CT et GC attendus

Membre du panel	Concentration (IFU ou CFU/mL)		Concentration (fg/test)		Réplicats	CT		GC	
	CT	GC	CT	GC		TIGRIS % concordance	PANTHER % concordance	TIGRIS % concordance	PANTHER % concordance
Panels CT/GC[1,2]									
Faible/Faible	2,5	125	5	250	90	100	100	100	100
Méd/Méd	25	1250	50	2500	90	100	100	100	100
Faible/Élevée	2,5	2 500 000	5	5 000 000	90	100	100	100	100
Élevée/Faible	25 000	125	50 000	250	90	100	100	100	100
Panels GC[2,3]									
Nég./Très faible	0	12,5	0	25	117*	100	100	100	100
Nég./Faible	0	125	0	250	120	100	100	100	100
Nég./Moyen	0	1250	0	2500	120	100	99,2	100	100
Panels CT[1,3]									
Très faible/Nég.	0,25	0	0,5	0	120	100	100	100	100
Faible/Nég.	2,5	0	5	0	120	100	100	100	100
Moyen/Nég.	25	0	50	0	120	100	100	100	100
Panels négatifs[3]									
Nég./Nég.	0	0	0	0	360	100	100	99,7	99,7

*Un échantillon du panel a été préparé incorrectement et a été exclu de l'analyse.

[1]Pourcentage de concordance CT positive globale entre TIGRIS DTS System et PANTHER System (IC à 95 %) : 100 % (99,5 à 100).

[2]Pourcentage de concordance GC positive globale entre TIGRIS DTS System et PANTHER System (IC à 95 %) : 100 % (99,5 à 100).

[3]Pourcentage de concordance négative globale entre TIGRIS DTS System et PANTHER System (IC à 95 %) : 99,9 % (99,5 à 100).

Étude de sensibilité analytique

La sensibilité analytique du test APTIMA COMBO 2 a été analysée en utilisant trois matrices d'échantillons représentatives. Ces dernières se composaient d'urine traitée avec du milieu de transport d'urine (urine transport medium, UTM), du milieu liquide pour frottis PreservCyt dilué avec du milieu de transport pour écouvillon (swab transport medium, STM) et du STM. Des pools de ces trois matrices ont été ensemencés avec du rRNA CT et GC aux concentrations suivantes : 0,5 fg/test, 5 fg/test et 50 fg/test de CT (conc. rRNA équivalentes de 0,25 IFU/mL, 2,5 IFU/mL et 25 IFU/mL), ou 25 fg/test, 250 fg/test, or 2500 fg/test de GC (conc. rRNA équivalentes de 12,5 CFU/mL, 125 CFU/mL ou 1250 CFU/mL). Les équivalents rRNA ont été calculés d après la taille du génome et le ratio estimé DNA:RNA/cellule de chaque organisme. Ces panels ont été analysés en réplicats de 96 sur trois PANTHER Systems avec trois lots de réactifs. La concordance avec les résultats attendus a été calculé. La concordance avec les résultats attendus était de 100 % (IC à 95 % : 96,1 à 100 %) pour tous les panels d'urine, de 100 %, (IC à 95 % : 96,0 à 100 %) pour tous les panels de frottis en milieu liquide PreservCyt, et de 100 % (IC à 95 % : 96,1 à 100 %) pour tous les panels STM. La sensibilité analytique du test était de 2,5 IFU/mL pour CT et de 125 CFU/mL pour GC.

Étude de reproductibilité

La précision du test APTIMA COMBO 2 a été évaluée sur trois PANTHER Systems et avec trois lots de kits APTIMA COMBO 2 pendant une période de 24 jours. Des panels ont été constitués en ensemençant du rRNA de CT et/ou de GC dans du STM aux concentrations présentées dans le tableau 26. Les opérateurs ont effectué deux séries d'analyses par jour, chaque échantillon de panels étant présent en duplicat dans les séries. La concordance avec les résultats attendus a ét calculé et la précision du test a été estimé selon les directives NCCLS EP5-A2 (24). Le nombre total de réplicats par panel était de 96. Le tableau 26 présente les données de précision concernant des mesures RLU pour ce qui est des valeurs moyennes, de l'écart-type (SD), du coefficient de variation (CV) et du pourcentage de concordance avec les résultats attendus calculés pour les variabilités entre instruments, entre lots, entre séries et au sein d'une même série, ainsi que la variabilité globale.

Tableau 26 : Précision du test APTIMA COMBO 2 pour le PANTHER System

Matrice	CT (IFU/mL)	GC (CFU/mL)	N*	RLU moyenne (x1000)	% Concord.	Entre instruments		Entre lots		D'une série à l'autre		Intra-série		Total	
						SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)	SD (x1000)	CV (%)
STM	0	0	96	6	100	0,06	1	0,88	13,5	0	0	1,02	15,7	1,3	20,1
	0,25	0	95	1226	100	70,03	5,7	20,03	1,6	8,43	0,7	47,05	3,8	87,1	7,1
	2,5	0	96	1249	100	77,97	6,2	6,11	0,5	0	0	32,87	2,6	84,8	6,8
	25	0	95	1268	100	72,85	5,7	15,3	1,2	0	0	39,58	3,1	84,3	6,6
	0	12,5	96	1081	100	18,44	1,7	28,59	2,6	0	0	26,68	2,5	43,2	4
	0	125	96	1266	100	29,81	2,4	0	0	8,86	0,7	27,58	2,2	41,6	3,3
	0	1250	96	1309	100	29,41	2,2	0	0	9,83	0,8	31,83	2,4	44,4	3,4
	2,5	125	96	2456	100	86,58	3,5	0	0	0	0	52,99	2,2	101,5	4,1
	2,5	2500	96	2509	100	73,13	2,9	0	0	19,8	0,8	46,77	1,9	89	3,5
	1000	2500	96	2496	100	31,72	1,3	6,14	0,2	0	0	193,66	7,8	196,3	7,9
	1000	125	96	2471	100	83,63	3,4	9,36	0,4	0	0	52,35	2,1	99,1	4
Urine	0	0	94	6	100	0,2	3,2	0,66	10,8	0,36	5,9	1	16,3	1,3	21,2
	0,25	0	95	863	100	70,73	8,2	165,65	19,2	47,97	5,6	132,27	15,3	228,6	26,5
	2,5	0	95	1129	100	56,02	5	89,56	7,9	8,56	0,8	74,19	6,6	129,4	11,5
	25	0	96	1246	100	60,45	4,9	13,97	1,1	13,36	1,1	43,03	3,5	76,7	6,2
	0	12,5	96	1016	100	18,83	1,9	31,81	3,1	7,88	0,8	49,53	4,9	62,3	6,1
	0	125	96	1209	100	49,32	4,1	23,5	1,9	1,68	0,1	40,28	3,3	67,9	5,6
	0	1250	96	1252	100	53,01	4,2	40,34	3,2	7,72	0,6	40,23	3,2	78,2	6,2
	2,5	125	95	2290	100	73,92	3,2	40,88	1,8	10,43	0,5	56,12	2,5	101,9	4,4
PreservCyt	0	0	96	7	100	0	0	0,8	11,7	0	0	1,54	22,4	1,7	24,7
	0,25	0	96	1113	100	92,29	8,3	30,08	2,7	0	0	63,57	5,7	116	10,4
	2,5	0	96	1194	100	62,54	5,2	24,83	2,1	0	0	47,01	3,9	82,1	6,9
	25	0	95	1222	100	65,14	5,3	26,36	2,2	14,67	1,2	34,97	2,9	79,8	6,5
	0	12,5	93	994	100	33,28	3,3	36,92	3,7	15,97	1,6	26,15	2,6	58,4	5,9
	0	125	95	1189	100	40,1	3,4	4,45	0,4	10,87	0,9	21,44	1,8	47	4
	0	1250	95	1239	100	37,69	3	7,47	0,6	13,61	1,1	18,04	1,5	44,6	3,6
	2,5	125	95	2333	100	99,68	4,3	35,27	1,5	12,61	0,5	48,86	2,1	117,2	5

Remarque : La variabilité de certains facteurs peut être numériquement négative, phénomène pouvant survenir si la variabilité due à ces facteurs est très minime. Dans ces cas, SD = 0 et CV = 0 %.

* Nombre total de réplicats pour chaque panel = 96. Dans certaines séries spécifiques, les réplicats individuels invalides n'ont pas été réanalysés.

Spécificité analytique

La spécificité analytique n'a pas été évaluée pour le PANTHER System. Se référer au chapitre *Performance analytique du TIGRIS DTS System* pour l'*Étude de l'équivalence de la spécificité analytique*.

Étude de l'équivalence des substances interférentes

Le sang, une substance que l'on trouve couramment dans les échantillons urogénitaux, peut interférer avec certains tests d'amplification. Le degré d'interférence éventuel produit par la présence de sang a été déterminé en utilisant du sang entier. Cette interférence potentielle au niveau de la détection de la présence ou de l'absence de CT et de GT a été évaluée en rajoutant du sang frais aux pools cliniques d'échantillons vaginaux sur écouvillon, de frottis en milieu liquide PreservCyt traités et d'urine. Des concentrations équivalentes estimées de

rRNA de 1 IFU/test (5 fg/test) de CT et de 50 cellules de GC/test (250 fg/test) ont été utilisées car elles correspondent à la sensibilité analytique du test. Les échantillons ont été analysés sur le PANTHER System. Tous les échantillons contenant de l'acide nucléique cible étaient positifs lorsqu'ils étaient testés à une concentration de 10 % (vol/vol) de sang dans les échantillons sur écouvillon, les échantillons de frottis en milieu liquide PreservCyt, ou de 30 % (vol/vol) de sang dans les échantillons d'urine. Tous les échantillons qui ne contenaient pas la cible ont été correctement identifiés comme étant négatif à CT et GC. Ces résultats sont identiques à ceux démontrés pour le TIGRIS DTS System lorsque les mêmes quantités de sang leur sont rajoutées. La présence de sang dans les échantillons sur écouvillon, de PreservCyt et d'urine à des niveaux bien supérieurs à ceux attendus lors du recueil normal d'échantillons n'a pas interféré avec les résultats produits par le PANTHER System.

Études de contamination par transfert pour le PANTHER System

Afin d'établir que le PANTHER System minimise les risques de résultats faussement positifs liés à une contamination par transfert, une étude analytique a été réalisée sur plusieurs séries et sur trois PANTHER Systems à l'aide de panels ensemencés. La contamination de transfert a été évaluée en répartissant des échantillons avec un titre élevé de GC parmi les échantillons négatifs (environ 20 % du total). Les séries comprenaient des regroupements d échantillons fortement positifs et des regroupements d échantillons négatifs ainsi que des échantillons fortement positifs isolés disposés de manière spécifique dans la série. Les échantillons à titre élevés étaient préparés en ajoutant du rRNA de GC dans du STM pour obtenir une concentration finale de 5 x 10^5 fg rRNA/réaction (conc. équivalente de rRNA de 2,5 x 10^5 CFU/mL). Les analyses ont été effectuées pour 5 séries sur chacun des trois PANTHER Systems, soit un total de 2936 échantillons négatifs. Le taux de contamination de transfert global était de 0 % avec un intervalle de confiance de 95 % (0 à 0,1 %). Quatre échantillons négatifs ont été signalés comme invalides et exclus des calculs.

Bibliographie

1. **Beem, M. O., and E. M. Saxon**. 1977. Respiratory tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. NEJM **296**:306-310.
2. **Buimer, M., G. J. J. Van Doornum, S. Ching, P. G. H. Peerbooms, P. K. Plier, D. Ram, and H. H. Lee**. 1996. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by Ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. J. Clin. Microbiol. **34**:2395-2400.
3. **Cates, Jr., W., and J. N. Wasserheit**. 1991. Genital chlamydia infections: epidemiology and reproductive sequelae. Am. J. Obstet. Gynecol. **164**:1771-1781.
4. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2002. Screening Tests to Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections. United States Morbid. and Mortal. Weekly Rep. **51** (RR-15).
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** 2011. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. November.
6. **Chernesky, M. A., D. Jang, J. Sellors, K. Luinstra, S. Chong, S. Castriciano, and J. B. Mahony**. 1996. Urinary inhibitors of polymerase chain reaction and Ligase chain reaction and testing of multiple specimens may contribute to lower assay sensitivities for diagnosing *Chlamydia trachomatis* infected women. Mol. Cell. Probes. **11**:243-249.
7. **Ching, S., H. Lee, E. W. Hook, III, M. R. Jacobs, and J. Zenilman.** 1995. Ligase chain reaction for detection of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital swabs. J. Clin. Microbiol. **33**:3111-3114.
8. **Chong, S., D. Jang, X. Song, J. Mahony, A. Petrich, P. Barriga, and M. Chernesky.** 2003. Specimen processing and concentration of *Chlamydia trachomatis* added can influence false-negative rates in the LCx assay but not in the APTIMA COMBO 2 Assay when testing for inhibitors. J. Clin. Microbiol. **41**:778-782.
9. **Crotchfelt, K. A., B. Pare, C. Gaydos, and T. C. Quinn.** 1998. Detection of *Chlamydia trachomatis* by the Gen-Probe AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. J. Clin. Microbiol. **36**:391-394.
10. **Farrel, D. J**. 1999. Evaluation of AMPLICOR *Neisseria gonorrhoeae* PCR using cppB nested PCR and 16S rRNA PCR. J. Clin. Microbiol. **37**:386-390.
11. **Frommell, G. T., R. Rothenberg, S. Wang, and K. McIntosh**. 1979. Chlamydial infection of mothers and their infants. Journal of Pediatrics **95**:28-32.

12. **Gaydos, C. A., T.C. Quinn, D. Willis, A. Weissfeld, E. W. Hook, D. H. Martin, D. V. Ferraro, and J. Schachter.** 2003. Performance of the APTIMA COMBO 2 Assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. J. Clin. Microbiol. **41**:304-309.
13. **Goessens, W. H. F., J. W. Mouton, W. I. Van Der Meijden, S. Deelen, T. H. Van Rijsoort-Vos, N. L. Toom, H. Verbrugh, and R. P. Verkooyen.** 1997. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx, and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first-void urine. J. Clin. Microbiol. **35**:2628-2633.
14. **Holmes, K. K., G. W. Counts, and H. N. Beatz**. 1971. Disseminated Gonococcal infection. Ann. of Intern. Med. **74**:979-993.
15. **Holmes, K. K., H. H. Handsfield, S. P. Wang, B. B. Wentworth, M. Turck, J. B. Anderson, and E. R. Alexander**. 1975. Etiology of nongonococcal urethritis. NEJM **292**:1199-1205.
16. **Hook, E. W., III, and H. H. Handsfield.** 1999. Gonococcal infections in the adult. p. 458. *In* K. Holmes *et al.* (eds.) Sexually Transmitted Diseases. McGraw Hill, New York, NY.
17. **Jaschek, G., C. A. Gaydos, L. E. Welsh, and T. C. Quinn.** 1993. Direct detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from symptomatic and asymptomatic men by using a rapid polymerase chain reaction assay. J. Clin. Microbiol. **31**:1209-1212.
18. **Krauss, S. J., R. C. Geller, G. H. Perkins, and D. L. Rhoden.** 1976. Interference of *Neisseria gonorrhoeae* growth by other bacterial species. J. Clin. Microbiol. **4**:288-295.
19. **Mahony, J., S. Chong, D. Jang, K. Luinstra, M. Faught, D. Dalby, J. Sellors, and M. Chernesky**. 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, Ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. J. Clin. Microbiol. **36**:3122-3126.
20. **Masi, A. T., and B. I. Eisenstein.** 1981. Disseminated Gonococcal Infections (DGI) and Gonococcal Arthritis (GCA): II Clinical Manifestations, Diagnosis, Complications, Treatment and Prevention. Semin. Arthritis Rheum. **10**:173.
21. **McCurdy, Brenda W.** 1997. Cumitech Guide on Verification and Validation of Procedures in the Microbiology Laboratory. February, 1997, American Society for Microbiology. ASM Press.
22. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**. 1999. NCCLS EP5-A: Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (Vol. 19, No. 2).
23. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** 2002. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline for additional Guidance on Appropriate Internal Quality Control Testing Practices.
24. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**. 2004. NCCLS EP5-A2: Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods: Approved Guideline (2nd edition, Vol. 24, No. 25).
25. **Peterson E. M., V. Darrow, J. Blanding, S. Aarnaes, and L. M. de La Maza.** 1997. Reproducibility problems with the AMPLICOR PCR *Chlamydia trachomatis* test, J. Clin. Microbiol. **35**:957-959.
26. **Schachter, J.** 1985. Chlamydiae (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum-Trachoma group), p. 856-862. *In* E. H. Lennette, et al. (ed.), Manual of Clinical Microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
27. **Schachter, J., and M. Grossman.** 1981. Chlamydial infections. Ann. Rev. Med. **32**:45-61.
28. **Schachter, J.** 1978. Medical progress: chlamydial infections (third of three parts). NEJM **298**:540-549.
29. **Schachter, J., E. C. Hill, E. B. King, V. R. Coleman, P. Jones, and K. F. Meyer.** 1975. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. Am. J. Obstet. Gynecol. **123**:753-757.
30. **Stary, A., E. Schuh, M. Kerschbaumer, B. Gotz, and H. Lee**. 1998. Performance of transcription-mediated amplification and Ligase chain reaction assays for detection of chlamydial infection in urogenital samples obtained by invasive and noninvasive methods. J. Clin. Microbiol. **36**:2666-2670.
31. **Toye, B., W. Woods, M. Bobrowska, and K. Ramotar.** 1998. Inhibition of PCR in genital and urine specimens submitted for *Chlamydia trachomatis* testing. J. Clin. Microbiol. **36**:2356-2358.
32. **Verkooyen, R. P., A. Luijendijk, W. M. Huisman, W. H. F. Goessens, J. A. J. W. Kluytmans, J. H. Rijsoort-Vos, and H. A. Verbrugh.** 1996. Detection of PCR inhibitors in cervical specimens by using the AMPLICOR *Chlamydia trachomatis a*ssay. J. Clin. Microbiol. **34**:3072-3074.
33. **Vincelette, J., J. Schirm, M. Bogard, A. Bourgault, D. Luijt, A. Bianchi, P. C. Van Voorst Vader, A. Butcher, and M. Rosenstraus.** 1999. Multicenter evaluation of the fully automated COBAS AMPLICOR PCR test for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. J. Clin. Microbiol. **3**:74-80.
34. **Yuan, Y., Y-X. Zhang, N. G. Watkins, and H. D. Caldwell.** 1989. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. Infect. Immun. **57**:1040-1049.

Gen-Probe Incorporated
San Diego, CA 92121 USA
Pour nous contacter aux États-Unis et dans d'autres pays :
Service Client : +1 858 410 8002
customerservice@gen-probe.com
Service Client : +1 858 410 8002
customerservice@gen-probe.com
Service technique : +1 858 410 8511
technicalsupport@gen-probe.com
Numéro d'appel gratuit à partir des États-Unis et du Canada :
Service Client : +1 800 523 5001
Service technique : +1 888 484 4747
www.gen-probe.com

CE 0843

EC REP

EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, La Haye
Pays-Bas

GEN-PROBE, GEN-PROBE et son logo, APTIMA, APTIMA et son logo, APTIMA COMBO 2, DTS, LEADER, PACE, PANTHER, SB100 et TIGRIS sont des marques déposées de Gen-Probe Incorporated.
eppendorf (stylisé) et REPEATER sont des marques de commerce d'Eppendorf AG.
PRESERVCYT et THINPREP sont des marques commerciales de Hologic, Inc.
TECAN et FREEDOM EVO sont des marques de commerce de Tecan Group AG.

Tout autre nom de marque pouvant apparaître sur cette notice de test appartient à son propriétaire respectif.

© 2001-2013 Gen-Probe Incorporated

502183FR Rév. C

2013-04